Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

GERINNUNGSPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN IMMUNGLOBULINPRÄPARATIONEN MIT HILFE CHROMOGENER SUBSTRATE UND LASER-NEPHELOMETRIE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ANDREAS THUM
aus Stuttgart

1986

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543903_0042

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

GERINNUNGSPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN IMMUNGLOBULINPRÄPARATIONEN MIT HILFE CHROMOGENER SUBSTRATE UND LASER-NEPHELOMETRIE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ANDREAS THUM
aus Stuttgart

1986

Dekan: Professor Dr. J. Dichgans
1. Berichterstatter: Professor Dr. W. Heller
2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Schorer

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

Herrn Professor Dr. W. Heller möchte ich danken, daß er mir diese Arbeit ermöglicht und mich stets in freundlicher Weise unterstützt hat.

Mein Dank gilt weiterhin auch seinen Mitarbeitern im Labor der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A)	EINLEITUNG	1
B)	ALLGEMEINER TEIL	3
1.	Immunglobuline - Entstehung, Aufbau, Funktion	3
2.	Gamma-Globuline vom Menschen - Herstellung und Anforderungen	9
3.	Indikationsgebiete von Gamma-Globulinpräparaten	14
4.	C1-Inhibitor	18
5.	Antiplasmin	20
6.	Alpha-1-Antitrypsin	21
7.	Alpha-2-Makroglobulin	23
8.	Fibronectin	26
9.	IgG	28
10.	IgM	29
11.	IgA	30
C)	MATERIAL UND METHODEN	33
1.	Präparate	33
2.	Materialien	36
3.	Methoden	37
3.1.	Untersuchung mittels chromogener Substrate	37
3.1.1.	C1-Inhibitor	37
3.1.2.	Antiplasmin	39
3.1.3.	Alpha-1-Antitrypsin	41
3.1.4.	Alpha-2-Makroglobulin	43
3.2.	Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie	45
3.2.1.	C1-Inhibitor	47
3.2.2.	Alpha-1-Antitrypsin	47
3.2.3.	Alpha-2-Makroglobulin	47
3.2.4.	Fibronectin	48
3.2.5.	IgG	48
3.2.6.	IgM	48
3.2.7.	IgA	48

Seite

3.3. Statistische Auswertung 49
3.4. Methodenkritik 49

D) ERGEBNISSE 51
1. C1-Inhibitor 51
2. Antiplasmin 56
3. Alpha-1-Antitrypsin 59
4. Alpha-2-Makroglobulin 65
5. Fibronectin 71
6. IgG 71
7. IgM 74
8. IgA 77

E) DISKUSSION 81
1. C1-Inhibitor 81
2. Antiplasmin 83
3. Alpha-1-Antitrypsin 85
4. Alpha-2-Makroglobulin 87
5. Fibronectin 88
6. IgG 89
7. IgM 90
8. IgA 91

F) ZUSAMMENFASSUNG 94

G) LITERATURVERZEICHNIS 98

H) TABELLEN-ANHANG

A) EINLEITUNG

Schon lange hat man erkannt, daß man durch therapeutische Gaben von Immunglobulinen in der Lage ist, die Abwehrkräfte des Körpers zu steigern und damit die Widerstandskraft gegenüber Infektionen zu erhöhen (9). Da die frühen Präparate oft beinahe soviel Nachteile wie Vorteile besaßen (155), setzte eine intensive Forschungsarbeit ein, um neue, bessere, das hieß vor allem verträglichere Formen zu finden. Ein erster Erfolg war die Einführung homologer Seren, die jedoch, da nur intramuskulär applizierbar, eine Anwendung höherer Dosen durch schmerzhafte Nebenwirkungen verhinderten (6). Der Durchbruch kam erst mit der Entwicklung intravenös verabreichbarer Präparate. Da auch diese noch zum Teil gravierende Nebenwirkungen aufwiesen (6, 55, 154), versuchte man dies durch Änderung der Molekülstruktur der Gammaglobuline zu beseitigen. Den in dieser Hinsicht in den letzten Jahren gemachten und auch immer noch andauernden Untersuchungen, entstammen die Vielzahl der auf dem Markt befindlichen Präparate, die sich in der Form ihrer Moleküle, ihrer Wirkungen und damit auch ihrem Einsatzbereich unterscheiden. Gleichzeitig mit der Entwicklung verträglicherer Präparate wuchs auch das Spektrum der Anwendungsmöglichkeiten. Immer mehr werden Immunglobuline bei Patienten mit schwerwiegenden Grunderkrankungen eingesetzt (37, 39, 95, 143, 144, 145).

Durch die Entdeckung der immunmodulierenden Wirkung der Präparate, d.h. die Beeinflussung der körpereigenen Antikörperbildung (47), ergab sich ein weiteres, noch nicht abzusehendes Feld von Therapiemöglichkeiten, wobei oft sehr hohe Dosen von Immunglobulinpräparaten eingesetzt werden (47, 76, 137, 141).

Aufgrund ihres Einsatzes bei meist sehr schweren Erkrankungen erschien es sinnvoll, die angebotenen Präparate auf

eventuell nicht deklarierte Inhaltsstoffe zu untersuchen bzw. die Angaben der Hersteller zu kontrollieren und die Ergebnisse untereinander zu vergleichen.

Um zu sehen, welche Menge an Immunglobulinen bei Benutzung der Präparate nun tatsächlich zur Anwendung kommt, sollte die IgG-Konzentration in den einzelnen Lösungen gemessen und mit den Herstellerangaben verglichen werden. Die gleiche Überlegung lag der Untersuchung der IgM-Konzentrationen zugrunde. Der Hauptgrund für die Suche nach eventuell enthaltenem IgA war die Tatsache, daß es häufig Ursache anaphylaktischer Schockreaktionen nach der Infusion von Immunglobulinpräparaten ist (55, 100, 175).

Andere Beweggründe führten zur Untersuchung auf den Gehalt an Alpha-1-Antitrypsin, Antiplasmin, C1-Inhibitor und Alpha-2-Makroglobulin. Alle vier Substanzen haben vor allem Auswirkungen auf Blutgerinnung, Fibrinolyse und das Entzündungsgeschehen (66, 67, 171, 182). Da die Immunglobuline häufig bei schwerwiegenden Erkrankungen, die oft schon mit einer Störung der Hämostase einhergehen, eingesetzt werden, könnten derartige unkonntrolliert miteingebrachte Stoffe diese Störung verstärken bzw. erst zu einer klinischen Manifestation führen. Ein ähnlicher Gedanke lag auch der Suche nach Fibronectin in den Präparaten zugrunde, da es ebenfalls Einfluß auf die Entstehung und vor allem die Abräumung von Fibrinthromben hat (85, 115, 119).

B) ALLGEMEINER TEIL

1. Immunglobuline - Entstehung, Aufbau, Funktion

Der menschliche Organismus wird tagtäglich mit Stoffen konfrontiert, gegen die er sich zur Wehr setzen muß, um seine Individualität und Funktion aufrechtzuerhalten. Diese Substanzen werden Antigene genannt, sofern sie zwei Voraussetzungen erfüllen:

- sie müssen sich von den körpereigenen Komponenten unterscheiden,
- sie müssen ein komplexes Makromolekül sein (120).

Das können sowohl chemische Substanzen (z.B. Bakterientoxine), körperfremdes Eiweiß und Zellen (z.B. nach Bluttransfusionen) oder aber auch Mikroorganismen wie Bakterien, Viren etc. sein.

Um seiner Aufgabe gerecht zu werden, besitzt der Körper ein komplexes Abwehrsystem, dessen wichtigster Bestandteil die Immunglobuline sind. Dies sind für jedes Antigen spezifische Antikörper, die im Rahmen einer Antigen-Antikörper-Reaktion zur Elimination bzw. Unschädlichmachung der Fremdkörper führen. Die Zellen, die zur Antikörperproduktion fähig sind, die Lymphozyten, gehören zur Gruppe der weißen Blutkörperchen. Hierbei lassen sich je nach Entstehung und Funktion B- und T-Lymphozyten unterscheiden.

Dringt ein Antigen zum ersten Mal in einen Organismus ein, so trifft es hier auf B-Lymphozyten, die auf ihrer Oberfläche Antikörper tragen. Besitzen diese die für das Antigen zutreffende Spezifität, so kommt es zur Bindung und Aktivierung der Lymphozyten. Dieser Weg gilt allerdings nur für die sogenannten thymusunabhängigen Antigene. Thymusabhängige Antigene müssen gleichzeitig noch an entsprechende T-Lymphozyten binden, die ihrerseits dann wieder die Aktivierung der B-Lymphozyten unterstützen bzw. erst ermöglichen.

Aktivierte B-Lymphozyten entwickeln sich nun auf zwei verschiedenen Wegen weiter. Zum einen differenzieren sie zu Plasmazellen; diese besitzen die Fähigkeit zur Antikörperbildung. Zum anderen entstehen sogenannte Gedächtniszellen (memory cells), die in der Lage sind, bei erneutem Antigenkontakt schneller und effektiver die Antikörperproduktion einzuleiten (14, 130, 152).

Die gebildeten Antikörper lassen sich nach ihrem chemischen Aufbau und ihrer Funktion in fünf Klassen unterteilen: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD (152, 174).
Eine kurze Zusammenfassung ihrer biologischen Eigenschaften gibt folgende Tabelle:

IgG — Hauptanteil der Serumantikörper. Zusammengesetzt aus vier Subklassen. Lange biologische Halbwertszeit. Durchtritt durch Plazenta. Aktivierung von Komplement. Bindung an Rezeptoren auf phagozytierenden Zellen.

IgA — Hauptanteil von sekretorischen Antikörpern. Abwehrsystem in Schleimhäuten. Zusammengesetzt aus zwei Subklassen.

IgM — Makroglobulin, bestehend aus fünf Untereinheiten. Agglutinierende Eigenschaften. Erscheint früh nach Antigenstimulus. Aktivierung von Komplement.

IgE — Reagine: Antikörper gegen Pollen, Parasiten. Bindung an Rezeptoren auf Mastzellen und Basophilen. Anaphylaxie.

IgD Oberflächenimmunoglobin und Antigenrezeptor auf B-Lymphozyten.

Tab. 1: Biologische Eigenschaften der verschiedenen Immunglobulinklassen (110)

Um die Wirkungsweise der Antikörper genau zu verstehen, muß zuerst ihr molekularer Aufbau erläutert werden. Dies soll hier am Beispiel des ca. 75-80 % der Immunglobuline darstellenden IgG geschehen.
Die Antikörper gehören chemisch zur Klasse der Gamma-Globuline. Ihr Grundbaustein ist eine in "Faltblattstruktur" angeordnete Polypeptidkette aus ca. 110 Aminosäuren und einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 12000 Dalton (174). Eine solche Einheit wird als Domäne bezeichnet. Vier davon bilden aneinandergereiht die sogenannte H-Kette (heavy chain), werden nur zwei kombiniert ergibt dies die L-Kette (light chain).
IgG besitzt je zwei L- und H-Ketten, wobei sich die L-Ketten mit einer Hälfte der H-Ketten (vom Aminoende her) verbinden, und die Reste der H-Ketten sich ebenfalls zusammenlagern (157).
Die Ketten werden sowohl durch nicht kovalente Bindungen wie elektrostatische Anziehungskräfte, Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophobe Anziehung, als auch durch kovalente Bindungen über Disulfidbrücken zusammengehalten (156). So entsteht ein Y-förmiges Molekül (siehe Abb. 1) mit einem mittleren Molekulargewicht von etwa 150000 Dalton.
Diese beiden durch H- und L-Ketten gebildeten Arme sind für die Antigenbindung verantwortlich und werden deshalb auch Fab-Fragmente (fragment antigen binding) genannt. Die jeweils außenstehenden Domänen dieser Molekülanteile variieren im Gegensatz zu den übrigen von Antikörper zu Antikörper und bedingen so dessen Spezifität.

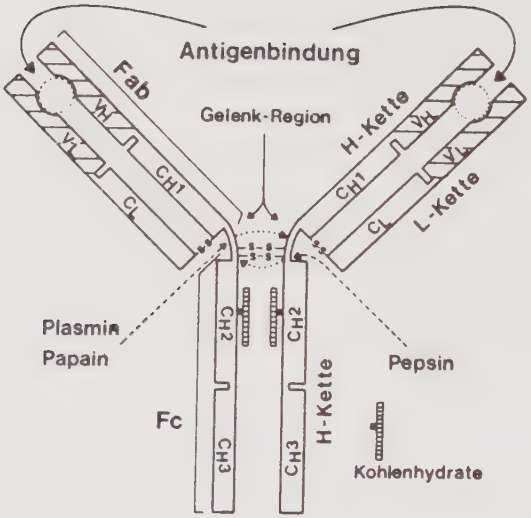

Abb. 1: Modell eines IgG-Moleküls (174)

Das durch die H-H-Kettenkombination entstandene Molekül-drittel wird als Fc-Fragment (fragment crystalline) bezeichnet, da es nach enzymatischer Spaltung durch Pepsin oder Papain in kristalliner Form ausfällt. Dieser Teil ist verantwortlich für eine Reihe von Eigenschaften der Gamma-Globuline, die jedoch zum Teil erst nach Antigenkontakt zur Ausprägung kommen (siehe Tab. 2).

- Bindung an Fc-Rezeptoren
- IgG-Synthese-Regulation: positiver/negativer Feedback
- Komplementaktivierung (klassisch über C1q)
- Opsonisierung (besonders neutrophile Granulozyten)
- Thrombozytenaktivierung

- Antikörper-vermittelte Zytotoxizität
- biologische Halbwertszeit (durch Kohlehydrat der C_H2-Domäne)
- Plazentapassage

Tab. 2: Fc-vermittelte Funktionen und Reaktionswege (156)

Als letztes ist noch die sogenannte Hinge-Region zu erwähnen. So bezeichnet man die Verbindungsregion zwischen Fc-Teil und Fab-Fragmenten. Sie ist äußerst flexibel und ermöglicht die Antikörperinteraktion auch mit weiter entfernten Antigenen (13, 77, 156, 174).

Die Antigenabwehr kann nun auf verschiedene Art und Weise erfolgen.
Zum einen gibt es eine selbständige, allein durch die Antikörper vollbrachte Abwehr. So sind manche Immunglobuline gleichzeitig Antitoxine, zum Beispiel gegen Tetanus, Botulismus, Diphterie (61). Ebenso ist hier auch die sogenannte Virusneutralisation zu nennen, wobei das Virus durch die Beladung mit Antikörpern daran gehindert wird, den Kontakt zu seiner Zielzelle aufzunehmen (61).

Weitaus wichtiger sind allerdings die durch Antigen-Antikörperkontakt in Gang gesetzten Folgereaktionen. Hierbei sind vor allem die Aktivierung des Komplementsystems und die Wechselwirkung mit phagozytierenden Zellen zu nennen (61, 110, 157).

Als Komplementsystem wird eine Gruppe von 9-15 wohldefinierten Plasmaproteinen (Enzyme, Aktivatoren, Inhibitoren, reine Bindungsproteine) bezeichnet, die nach Aktivierung in einer kaskadenförmig ablaufenden Reaktion vielfältige biologische und physiologische Veränderungen bewirken (30, 33, 123, 147, 172). Um dieses System in Gang zu

bringen, gibt es zwei Möglichkeiten. Die erste, auch als klassischer Weg bezeichnet, ist antikörperabhängig. Der Start erfolgt durch Bindung des Fc-Teils von IgG oder IgM an C1q.
Der zweite, auch alternative Weg, beginnt erst bei C_3. Hier sind die Auslöser Enzyme wie Plasmin, Thrombin, Gewebs- und Bakterienproteasen. Aber auch Bakterienzellwände, Substanzen polyanionischer Natur und IgA können hier angreifen (61, 172). Eine Besonderheit dieses Weges besteht darin, daß er nach einer "Aktivierungsphase" durch Einbeziehung eines positiven Rückkopplungssystems (Leistungsphase) in der Lage ist, zu einer massiven C_3-Aktivierung zu führen (33, 147).
Die durch das Komplementsystem ausgelösten Reaktionen führen zu einer lokalen Entzündung und zur Bildung chemotaktischer Faktoren, die die Migration von Leukozyten zum Ort des Geschehens fördern. Weiterhin kommt es zu Histaminfreisetzung und Kininbildung. Läuft die Reaktion auf der Oberfläche von Erythrozyten ab, so bewirkt sie deren Hämolyse. In ähnlicher Weise werden Bakterien durch punktuelle Schädigung ihrer Zellwand lysiert (61, 156, 157).
Eine weitere wichtige Funktion des Komplementsystems ist die Bildung von Opsoninen. Dazu gehören die über den alternativen Weg gebildeten Faktoren C3b und C3bi. Ebenfalls zu dieser Gruppe zählt man die Fc-Teile von IgG-Antigen-Antikörper-Komplexen. Diese Opsonine haben die Aufgabe, zu eliminierende Partikel für Phagozyten (polymorphkernige neutrophile Granulozyten und mononukleäre Phagozyten) erkennbar zu machen, und die Verbindung zwischen beiden herzustellen. Dafür besitzen die Phagozyten spezielle Fc-, C3b-, und C3bi-Rezeptoren. So haben also IgG und, über das Komplementsystem, auch IgM die Möglichkeit, ihre jeweiligen Antigene verstärkt der intrazellulären Verdauung zuzuführen (15, 61, 156, 157).

2. Gamma-Globuline vom Menschen - Herstellung und Anforderungen

All diese Wirkungen der Antikörper legten den Gedanken nahe, einen erkrankten Organismus durch Substitution von Immunglobulinen in seiner Abwehr zu stärken. Seit den Arbeiten von Behring und Kitasato (9) aus dem Jahre 1980 kennt man die Wirksamkeit spezifischer Antikörper in der Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten.
Die damals verwendeten heterologen Seren hatten jedoch den Nachteil, daß sie als Fremdeiweiß zu einer Sensibilisierung des Empfängers führten und dadurch die sogenannten Serumkrankheiten hervorriefen (155). Erst durch die Einführung homologer Seren konnte diese Gefahr vermieden werden.
Seither wurde eine Vielzahl von Gamma-Globulin-Präparaten auf den Markt gebracht. Sie entsprechen meist der Cohnschen Fraktion II, ein durch Alkoholfraktion aus menschlichem Plasma gewonnenes Material, das fast ausschließlich Immunglobuline der Klasse IgG enthält.
Diese Produkte haben allerdings den Nachteil, daß sie nur intramuskulär oder subkutan appliziert werden können und hier schon in kleinen Mengen schmerzhafte Reizerscheinungen auslösen (6).

Um eine höhere Dosierung und eine schnellere Ausbreitung im Körper zu erreichen, war es jedoch wünschenswert, ein Präparat auch intravenös anwenden zu können.
Diesbezügliche Versuche mit den normalen Standard-Gamma-Globulin-Lösungen führten aber bei manchen Individuen zu schweren, bis hin zu lebensbedrohenden Folgeerscheinungen, die aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit allergischen Symptomem als anaphylaktoide Reaktionen bezeichnet wurden. Bei der Untersuchung der Ursachen kam man zu folgenden Ergebnissen: während der Herstellung des Standard-Immunglobulins entstehen sogenannte IgG-Aggregate, die infolge einer Konfigurationsänderung des Fc-Teils in der Lage sind, antigenunab-

hängig das Komplementsystem zu aktivieren. Man bezeichnet dies als antikomplementäre Aktivität (6, 55, 154, 155). Eine weitere Erklärung der Unverträglichkeit basiert auf folgender Überlegung: bei Patienten, die aufgrund einer Abwehrschwäche mit Antigenen überladen sind (antigen overload), kommt es bei massiver exogener Zufuhr von Antikörpern zu einer überschießenden Bildung von Immunkomplexen. Die auch hier von den Fc-Teilen ausgelösten Folgereaktionen können zu einer Überlastung der Kontrollmechanismen und zur Ausprägung klinischer Symptome führen. Man spricht dann von einer Immunkomplexerkrankung (55, 154, 155).

Die Versuche zur Herstellung eines intravenös injizierbaren Immunglobulins verliefen nun dahingehend, daß man versuchte, den Fc-Teil zu eliminieren bzw. in seiner Funktion zu hemmen. Um dieses Ziel zu erreichen wurde eine Vielzahl von verschiedenen Wegen beschritten, wie die folgende Tabelle zeigt:

	Herstellungsmethode z.B. mit
Enzymatisch	Pepsin
	pH 4 und Pepsin
	Plasmin
Chemisch	Beta-Propiolacton
	Sulfit, Tetrathionat
	Dithiothreitol/Jodacetamid
	Dithioerythritol/Carbodiimid/Glycin
Säure	pH 4 (Pepsin)
Temperatur	56°C

Adsorption	Kohle
	Kieselsäure (z.B. Aerosil)
	Bentonit
	Ca- oder Al-Phosphat
Fraktionierung	Polyäthylenglykol in Kombination mit Hydroxyäthylstärke
	Blockmischpolymerisate
	Dextrane
	Verschiedene Adsorptionsmittel
	Ammonsulfat
	Rivanol u.ä./Äthanol
	Ionenaustauscher

Tab. 3: Methoden zur Herstellung von Immunglobulinen zur intravenösen Anwendung (157)

Je nach Art der angewandten Technik erhält man verschiedene Modifikationen der Immunglobuline, die sich in Struktur, Eigenschaften und demzufolge auch in ihrem Indikationsbereich unterscheiden. Nachfolgend sollen einige der Methoden und die daraus sich ergebenden Veränderungen näher erläutert werden:

- bei der enzymatischen Spaltung mit Pepsin erhält man einen, nach seinem Sedimentationsverhalten 5S-Fragment genannten Teil, der den zwei Fab-Armen des Ausgangsmoleküls entspricht (F(ab')2-Fragment). Der Fc-Teil wurde abgetrennt und durch das Pepsin zu einer kleineren 2,4-2,7S-Komponente (pFc'-Teil) weitergespalten.
  Diese bivalenten F(ab')2-Antikörperfragmente sind zur Virus- und Toxinneutralisation wie auch zur Präzipitations- und Agglutinationsreaktion in der Lage; eine Komplementaktivierung ist allerdings nur noch über den alternativen Weg möglich. Weiterhin sinkt ihre Halbwertszeit auf knapp zwei Tage (6). Dies hat den Vorteil, daß

schnell aufeinanderfolgende Infusionen, die infolge eines raschen Verbrauchs der jeweils benötigten Antikörper angezeigt sein könnten, ermöglicht werden (155). Das Hauptindikationsgebiet dieser Immunglobulinmodifikation ist also vor allem die rasche Therapie, weniger die Prophylaxe.

- Spaltet man das Ausgangsmaterial mit Plasmin erhält man noch kleinere Bruchstücke, die 3S-Fragmente. Diese entsprechen einem einzelnen Fab-Teil und sind daher monovalent. Sie sind noch fähig, Toxine zu neutralisieren, können aber das Komplementsystem nicht mehr aktivieren. Ihre Halbwertszeit beträgt einen Tag. Daß das plasminbehandelte Präparat jedoch trotzdem eine klinische Wirksamkeit zeigt, liegt an dem Prozentsatz offenbar plasminresistenter Moleküle, die als 7S-Komponente zwar keine antikomplementäre Wirkung mehr, aber ansonsten alle Eigenschaften des ursprünglichen Gamma-Globulinmoleküls besitzen. Da auch ihre Halbwertszeit deshalb kaum verkürzt ist, können sie in der Prophylaxe Verwendung finden (5, 6, 93, 158).

- Ein ähnliches Ergebnis erzielt man bei der Behandlung von Standard-Immunglobulin mit Säure (pH 4), Beta-Propiolacton oder Dithiothreitol. Hierbei bleibt der Fc-Teil und somit die Funktion erhalten, aber durch bestimmte Veränderungen des Gesamtmoleküls wird eine antikomplementäre Aktivität verhindert. Lediglich bei dem pH 4-behandelten Präparat kann sie sich bei längerer Lagerung wieder einstellen (6, 48, 64, 162, 163).

- Eine Sonderstellung unter den chemischen Modifikationen nimmt die S-Sulfonierung ein. Hierbei werden durch Sulfitolyse die Interketten-Disulfidbrücken gelöst, die zwar nicht für den Zusammenhalt, aber für die räumliche Anordnung des Moleküls von Wichtigkeit sind (59). Durch

diese Konformationsänderung werden die Effektorfunktionen des Fc-Teils weitgehend unterdrückt (75). Die Besonderheit ist, daß diese Veränderung reversibel ist, d.h. innerhalb einiger Stunden nach Infusion ist die volle Wirksamkeit der Immunglobuline wiederhergestellt (104). Vorteil dieser langsamen Rekonstitution ist, daß eine plötzliche, überschießende Antigen-Antikörper-Reaktion im Sinne einer Immunkomplexerkrankung verhindert wird.

Um einen gewissen Standard all dieser verschiedenen Präparate zu gewährleisten, wurden auf der Grundlage der "Requirements for Human Immunglobulin" der World Health Organization (WHO) im Europäischen Arzneibuch (PH. EUR.) Mindestanforderungen und Prüfmethoden festgelegt.
Präparate zur intramuskulären Anwendung ("Immunglobulin vom Menschen") müssen demnach aus Plasma oder Serum von mindestens 1000 Spendern mittels einer Methode hergestellt werden, deren Produkt

- keine Infektionen überträgt,
- zu einer mindestens 10-fachen Konzentration der Antikörper führt,
- bei einer Eiweißkonzentration von 16 Prozent mindestens 2 Antikörper enthält, für die ein internationales Standard- oder Referenzpräparat zur Verfügung steht.

Des weiteren muß gewährleistet sein, daß die Lösung ausschließlich Proteine menschlichen Ursprungs enthält. Mindestens 90 % davon müssen Immunglobuline sein, wovon wiederum über 80 % einen Sedimentationskoeffizienten von 7 haben müssen. Schließlich muß das Produkt den Prüfungen auf Pyrogenfreiheit und Freisein von anomaler Toxizität standhalten (18).

Bei den sogenannten Hyperimmunglobulinen, das sind Lösungen, die einen hohen Gehalt an speziell gegen eine Krankheit

gerichteten Antikörpern besitzen (z.B. gegen Tollwut), wird die Forderung nach 1000 Spendern sinnvollerweise fallengelassen. Hier stammt das Ausgangsmaterial von Rekonvaleszenten bzw. speziell gegen diese Krankheit immunisierten Spendern.

Für die zur intravenösen Verabreichung vorgesehenen Präparate ("Immunglobulinpräparation vom Menschen") gibt es in Europa noch keine fixierte Prüfungsvorschrift. In den Grunddaten müssen sie allerdings der Monographie "Immunglobulin vom Menschen" entsprechen. Einige zusätzliche Anforderungen enthält die Monographie "Trockenplasma", wie ein Verbot von Konservierungsmitteln, eine verschärfte Pyrogenprüfung und die Begrenzung des Anti-A und Anti-B-Titers auf maximal 1:32 (146). Weiterhin wird jede Charge auf ihre antikomplementäre Aktivität geprüft.

Abschließend kann man sagen, daß die intravenös anwendbaren Immunglobulinpräparationen sehr stark untereinander differieren können, und die jeweilige Indikation auf Grund ihrer in der klinischen Prüfung erfaßten Eigenschaften festgelegt werden muß.

3. Indikationsgebiete von Gamma-Globulinpräparaten

Grundsätzlich kann man beim Einsatz von Immunglobulinen zwei verschiedene Zielsetzungen unterscheiden. Zum einen wird versucht, eine geschwächte Immunabwehr zu stärken und damit das Infektionsrisiko einzudämmen; zum anderen möchte man sich die immunmodulierende Wirkung von Gamma-Globulinen bei der Behandlung von Autoaggressionskrankheiten zu Nutze machen.

Zur ersten Kategorie läßt sich allgemein sagen, daß eine Schutzwirkung durch zugeführte Immunglobuline sowohl bei Bakterien- als auch Virusinfektionen von vielen Forschungsgruppen belegt werden konnte (80, 108, 109, 168).
Diese Tatsache wird vor allem bei der Behandlung der sogenannten Defektimmunopathien ausgenützt. Man kann diese in eine primäre und sekundäre Form unterteilen.

Zu den primären Defektimmunopathien gehört das schon beinahe "klassische" Indikationsgebiet der Immunglobuline, die Agammaglobulinämie. Diese seit den 50er Jahren bekannte Krankheit ist in der Regel geschlechtschromosomal gebunden **vererbbar** (54, 57). Man unterscheidet heute weiter in eine kongenitale, erworbene oder transitorische Form (57). Allen ist das Fehlen von Antikörpern auf Grund mangelnder Synthese gemeinsam. Als Folge davon sind Personen mit diesem Krankheitsbild außerordentlich anfällig gegenüber Infektionen. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß diese Gefahr durch regelmäßige intravenöse Zufuhr von Gamma-Globulinen beseitigt werden kann (54, 81, 122).
Um die Antikörperkonzentration im Serum über der kritischen Grenze von ca. 240 mg/100 ml (81) zu halten, ist eine Substitution von etwa 300 mg/kg Körpergewicht pro Monat notwendig (81, 111). Weiterhin ist zu beachten, daß nur 7S-Präparate verwendet werden, da nur sie eine ausreichend lange Halbwertszeit besitzen.

Unter den sekundären Defektimmunopathien versteht man eine Reihe verschiedener Krankheiten, die zu einer Schwächung bis hin zum Ausfall der Immunabwehr führen können (151). Die Schäden können an verschiedenen Stellen des Immunsystems entstehen und unterschiedliche Funktionen befallen. Hier interessieren jedoch lediglich Defekte mit nachfolgend verringerter Synthese von Antikörpern. Als Beispiele sind hier vor allem die chronische lymphatische Leukämie, das multiple Myelom und der Morbus Waldenström zu nennen

(50, 136, 145, 151). Wie Untersuchungen zeigten, kann auch hier das Infektionsrisiko durch Gamma-Globulin-Substitution gesenkt werden (136).

Ein weiteres Indikationsgebiet für die Zufuhr von Antikörpern entsteht bei der Behandlung maligner Prozesse mittels Chemotherapie. So fand man z.B. bei Leukämiepatienten, die ursprünglich einen normalen Antikörpertiter besaßen, nach einer Chemotherapie signifikant erniedrigte Werte von Gamma-Globulinen (91, 107, 127), die auf die immunsuppressive Wirkung (Granulozytopenie, Verminderung der Antikörperproduktion, Beeinträchtigung der Lymphozytenfunktion) der angewendeten Pharmaka zurückzuführen sind (127).
Daß in solchen Fällen die Infektionsrate durch prophylaktische Gaben von Immunglobulinen ebenfalls gesenkt werden kann, wurde durch verschiedene Studien bestätigt (71, 95, 143, 144).

Als letzter Anwendungsbereich soll die Behandlung chirurgischer Patienten besprochen werden. Anästhesie und/oder Operation führen nachweislich zu einem Abfall der B-Lymphozytenanzahl, sowie zu einer Aktivitätsverminderung und als Folge davon zum Abfall des Antikörpertiters (19). Die hohe postoperative Infektionsgefahr, und die trotz Antibiotika immer noch relativ große Anzahl der Todesfälle durch Sepsis machen es notwendig, auch hier den Einsatz von Immunglobulinen zu untersuchen. So konnten vor allem Duswald und Ring (37, 39, 40) zeigen, daß durch rechtzeitige Verabreichung von Gamma-Globulinen deren Titer im Blut auch postoperativ auf einem normalen Wert gehalten werden kann. Weiterhin zeigten derart behandelte Patienten eine weitaus geringere Anfälligkeit gegenüber Infektionen (37, 39, 40).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich der Einsatz von Immunglobulinen zur Unterstützung eines geschwächten Abwehr-

systems bewährt hat. Die oft notwendige sehr hohe Dosierung ist durch die Entwicklung intravenös anwendbarer Präparate problemlos geworden. Vermehrt auftretende Infektionen können so verhindert, bereits bestehende oder in der Entwicklung begriffene können in ihrem Verlauf abgeschwächt oder ganz geheilt werden.

Ein ganz anderer Gedankengang liegt dem Einsatz von Gamma-Globulinen in der nachfolgend geschilderten Weise zu Grunde. Man geht von der Überlegung aus, daß hochdosierte Gaben von Immunglobulinen in der Lage sind, die körpereigene Antikörperproduktion zu beeinflussen. Diskutiert wird hier eine Unterdrückung der Antikörpersynthese im Sinne einer negativen Rückkopplung oder einer Erhöhung des Katabolismus (47). Man versucht nun, sich diese Tatsache in der Therapie von Autoimmunerkrankungen zu Nutze zu machen.
Eines der am besten untersuchten Beispiele ist die idiopathische thrombozytopenische Purpura (ITP).
Die Ursache dieser Erkrankung sind Antikörper, die sich gegen die körpereigenen Blutplättchen richten, diese schädigen und dadurch deren vorzeitige Elimination herbeiführen. Die Folge davon ist eine Thrombozytopenie mit gesteigerter Blutungsneigung (89, 183). 1981 wurde von Imbach et al. (76) zum ersten Mal von der erfolgreichen Behandlung der ITP bei Kindern durch Gamma-Globulinsubstitution berichtet.
Kurze Zeit später konnte ein ähnlicher Erfolg von Schmidt et al. (141, 142) bei der Behandlung Erwachsener erzielt werden. In beiden Fällen wurde von einem signifikanten Anstieg der Thrombozytenzahl während der Therapie berichtet.

Ausgehend von diesen Erfolgen wurde von Fateh-Moghadam et al. (47) die Behandlung einer anderen Autoimmunerkrankung, der Myasthenia gravis, untersucht. Diese Krankheit beruht auf der Bildung von Antikörpern gegen postsynaptische Acetylcholinrezeptoren. Die klinischen Auswirkungen sind in der Hauptsache Schwäche und rasche Ermüdbarkeit der

Skelettmuskulatur (179). Im Laufe der Untersuchung konnte gezeigt werden, daß der Titer dieser Antikörper während der Therapie mit Gamma-Globulinen signifikant absank.

Die hier geschilderten Resultate lassen erkennen, daß sich auf dem Gebiet der Therapie von Autoimmunopathien ein weites Feld für den Einsatz von Immunglobulinen erschließt, dessen Grundlagen und Ausmaß noch lange Ziel intensiver Forschung sein wird.

4. C1-Inhibitor

Der C1-Inhibitor, auch C1-Esterase-Inhibitor genannt, ist ein Alpha-2-Neuraminglykoprotein mit einem Molekulargewicht von 104000 Dalton (66). Seine normale Konzentration im Serum beträgt 18±5 mg/100 ml. Er wurde zuerst 1961 von Pensky et al. (124) dargestellt. Donaldson und Evans (32) konnten 1963 zeigen, daß ein Mangel an C1-Inhibitor zum klinischen Bild des hereditären angioneurotischen Ödems führt.
Die physiologische Bedeutung des C1-Inhibitors liegt zum einen in seiner Wirkung auf das Komplementsystem. Die erste Komponente des klassischen Weges der Komplementaktivierung, das C1, besteht aus drei Subkomponenten: C1q, C1r, C1s. C1q ist für die Bindung an das Antikörpermolekül zuständig und aktiviert C1r und dieses dann C1s. Das Endprodukt ist die C1-Esterase, die daraufhin die nächste Komplement-Komponente spaltet (33, 123, 147, 172). C1-Inhibitor bildet sowohl mit C1s als auch mit C1r Komplexe und verhindert so deren Reaktion. Die Affinität von C1s wie auch von C1r zum C1-Inhibitor ist gleich groß, jedoch reagiert C1s schneller. Die Anwesenheit von Ca^{++} verringert die Komplexbildung mit C1r, auf C1s hat dies keine Einwirkung. Dafür wird die Reaktionsgeschwindigkeit von C1s mit dem C1-Inhibitor durch

Heparin um das 14-15fache gesteigert. Dieser Effekt ist bei der C1r-C1-Inhibitor-Reaktion weitaus geringer. Weiterhin zeigte sich, daß C1r eine erhöhte Reaktionsbereitschaft mit dem C1-Inhibitor aufweist, wenn das Gesamt-C1 an einen Immunkomplex gebunden ist. Für C1s trifft dies wiederum nicht zu (159).

Eine weitere Funktion des C1-Inhibitors ergibt sich aus seiner hemmenden Wirkung auf Plasma-Kallikrein (128). Er gewinnt so einen Einfluß auf die vielfachen Reaktionen, die durch diesen Stoff ausgelöst werden.
So wird durch Plasma-Kallikrein aus den HMW-Kininogenen das vasoaktive Bradykinin freigesetzt, welches lokal blutdrucksenkend wirkt und schmerzauslösend ist. Des weiteren hat das Kallikrein eine wichtige Aufgabe bei der Blutgerinnung durch Aktivierung des Faktors XII (Hagemann-Faktor) sowie auch in der Fibrinolyse, indem es der bedeutendste Aktivator des Plasminogens ist. Zuletzt bewirkt Kallikrein noch eine unspezifische Aktivierung des Komplementsystems (88).

Der C1-Inhibitor hat weiterhin einen direkten Einfluß auf die Blutgerinnung, indem er Faktor XII sowie dessen aktive Teile hemmt (70, 148).

Ebenso greift er durch eine Hemmung des Plasmins (er hemmt neben der fibrinolytischen auch die caseinolytische Eigenschaft) direkt in die Fibrinolyse ein. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß Plasmin seinerseits genauso den C1-Inhibitor hemmt (65, 70, 128).

Eine weitere Eingriffsmöglichkeit in das Gerinnungssystem erhält der C1-Inhibitor durch seine Hemmwirkung auf PTA (plasma thromboplastin antecendent), den Faktor XI der Blutgerinnung (66, 87).

Eine ganz andere physiologische Wirkung des C1-Inhibitors ergibt sich aus seiner Behinderung der Bildung wie auch der Funktion des plasma permeability factors (PF/Dil), eines Plasmaenzyms, welches die Gefäßdurchlässigkeit in der Haut steigert (82, 128).

Als letztes wäre noch eine, wenn auch schwache Hemmwirkung des C1-Inhibitors auf Trypsin und Chymotrypsin zu erwähnen (70).

5. Antiplasmin

1976 wurde von verschiedenen Forschungsgruppen ein neuer Proteinase-Inhibitor beschrieben. Er bekam unterschiedliche Namen, so Alpha-2-Antiplasmin, Alpha-2-Plasmin Inhibitor und primary plasmin inhibitor (3).

Dieser Inhibitor ist ein Glykoprotein, das elektrophoretisch mit den Alpha-2-Globulinen wandert. Das Molekulargewicht beträgt 63000-67000 Dalton, die normale Konzentration im Plasma ist 5-7 mg/dl. Die Halbwertszeit im Körper liegt bei 2,6 Tagen (182). Bildungsort dieses Proteins ist offensichtlich die Leber, da bei Lebererkrankungen eine verringerte Konzentration von Antiplasmin im Körper gefunden werden kann. Ebenso konnte in einigen Fällen ein vererbbarer Mangel an Antiplasmin nachgewiesen werden (94).

Antiplasmin ist in der Lage, mit anderen Molekülen Komplexe zu bilden, die keinerlei enzymatische Aktivität mehr aufweisen. Eine derartige Reaktion ist möglich mit Trypsin (schnell), Chymotrypsin (mittelschnell), Kallikrein (langsam), Faktor Xa (langsam), Urokinase (sehr langsam), tissue-plasminogen aktivator (sehr langsam). Allerdings scheinen all diese Reaktionen physiologisch kaum eine Rolle zu spie-

len (182).

Die weitaus größte Bedeutung des Antiplasmins liegt in seiner Wirkung auf Plasmin, dem Hauptfaktor der Fibrinolyse. Antiplasmin ist der wichtigste Sofort-Inhibitor des Plasmins. Die Hemmung ist die Folge einer Komplexbildung beider Stoffe im stöchiometrischen Verhältnis 1:1. Die Reaktion verläuft in zwei Abschnitten, einer ersten, sehr schnellen, reversiblen Reaktion zweiter Ordnung, gefolgt von einer langsameren, irreversiblen Reaktion erster Ordnung. Als Ergebnis entsteht ein Komplex, bei dem der Inhibitor fest an die B-Kette des Plasmins gebunden ist (43, 181, 182).

Zuletzt sollte noch erwähnt werden, daß Antiplasmin möglicherweise auch als ein schwaches Akut-Phase-Protein anzusehen ist (182).

6. Alpha-1-Antitrypsin

Alpha-1-Antitrypsin, heute oft als Alpha-1-Proteinase Inhibitor benannt, wurde erstmalig 1955 von Schultze et al. (149) isoliert und beschrieben. Es ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 54000 Dalton (1, 22, 164). Bislang wurde meist die Leber als Syntheseort des Alpha-1-Antitrypsins angenommen (1, 22, 164). Neuere Untersuchungen scheinen dies zu widerlegen. So konnte gezeigt werden, daß Monozyten in der Lage sind, Alpha-1-Antitrypsin zu synthetisieren (49).

Die normale Serumkonzentration beträgt 260 mg/dl. Alpha-1-Antitrypsin hat demnach die höchste Konzentration aller Proteinase-Inhibitoren im Blut. Außer im Plasma findet man es noch in Liquor, Perilymphe, Tränenflüssigkeit, Vaginal-

sekret, Samenflüssigkeit, Galle, Duodenalsaft, Sputum, Bronchialsekret, Synovialflüssigkeit, Urin, Stuhl (22, 164).

Alpha-1-Antitrypsin inhibiert eine große Anzahl von Enzymen. So nimmt es Einfluß auf die Blutgerinnung durch Hemmung von Thrombin (34, 53, 72, 105), Faktor Xa (44), Faktor XIa (153), Hagemann-Faktor (22), auf die Fibrinolyse durch Hemmung von Plasmin (72) sowie auf das Kallikrein-Kinin-System durch Inhibition von Plasma-Kallikrein (72).
Weitere Enzyme, die durch Alpha-1-Antitrypsin inaktiviert werden, sind: Trypsin (1, 72), Chymotrypsin (1, 164), Pankreas- und Leukozyten-Elastase (72), Cathepsin G (72), Urokinase (22), Renin (22), Acrosin (72), Haut- und Synovial-Kollagenasen (72) sowie einige Bakterienenzyme (22, 169).

Die Fähigkeit zur Bildung von Alpha-1-Antitrypsin wird kodominant vererbt (1). Dies ist deshalb von großer Bedeutung, da Laurell und Eriksson 1969 (99) eine direkte Beziehung zwischen Alpha-1-Antitrypsin-Mangel und Lungenemphysem nachweisen konnten. Die Lungenerkrankung, die meist zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr auftritt, soll durch Selbstverdauung an den Alveolen durch Proteasen aus Makrophagen und Alveolar-Leukozyten entstehen, die sich durch den Mangel an Proteinase-Inhibitor ungehemmt entfalten können (164). Eine weitere Erkrankung, die in erhöhtem Maße bei Personen mit Alpha-1-Antitrypsin-Mangel beobachtet wurde, ist die juvenile Leberzirrhose, die sich häufig durch einen Icterus prolongatus ankündigt (1, 164).

Erhöhte Konzentrationen von Alpha-1-Antitrypsin im Plasma finden sich bei einigen entzündlichen Erkrankungen wie: Pankreatitis, Cholecystitis, Nephritis, traumatischer Arthritis und Sepsis (186). Alpha-1-Antitrypsin zählt zu den Akute-Phase-Proteinen (185).

Ebenfalls erhöhte Plasmakonzentrationen findet man bei vielen Krebserkrankungen sowie bei akuten Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen (73, 185, 186). Hier kann sich vielleicht die Messung von Alpha-1-Antitrypsin als diagnostisches Hilfsmittel bei der Beurteilung dieser Zustände erweisen (73, 164).

7. Alpha-2-Makroglobulin

Alpha-2-Makroglobulin wurde zum ersten Mal 1955 von Schultze et al. (149) beschrieben. Es ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 725000 Dalton. Das Molekül besteht aus vier identischen Untereinheiten mit je einem Molekulargewicht von 185000 Dalton, die paarweise über Disulfidbrükken verbunden sind. Beide Paare werden dann durch nichtkovalente Bindungen zusammengehalten (171).

Die Konzentration von Alpha-2-Makroglobulin im Plasma wird von verschiedenen Autoren recht unterschiedlich angegeben, jedoch kann man von einem Mittelwert von ca. 250 mg/dl ausgehen. Kinder besitzen bis zum 2,5fachen dieser Menge. Einige Autoren beschreiben auch eine höhere Konzentration bei Frauen. Sicher ist, daß der Wert in der Schwangerschaft und bei Einnahme von oralen Kontrazeptiva erhöht ist (67, 171, 184).

Alpha-2-Makroglobulin nimmt unter den Proteinase-Inhibitoren eine Sonderstellung ein. Zum einen durch sein breites Spektrum. Es inhibiert nahezu alle Proteinasen wie: Trypsin, Chymotrypsin, Faktor Xa, Plasmin, Thrombin, Plasma-Kallikrein, Plasminogen Aktivator, Urokinase, Leukozyten-Elastase (8, 44, 67).
Aber auch viele exogen (z.B. durch Viren, Bakterien) zugeführte Proteinasen werden durch Alpha-2-Makroglobulin ge-

hemmt. Dies und die Tatsache, daß homologe Proteine bei allen Säugetieren gefunden werden konnten, führte zu der Theorie, daß Alpha-2-Makroglobulin eigentlich als Bestandteil des Immunsystems anzusehen wäre (171).

Die zweite Besonderheit dieses Proteins besteht in der Art wie es die Bindung zu seinem Substrat eingeht. Dafür gibt es drei verschiedene Möglichkeiten.
Die erste ist die sogenannte "Trapping Reaction". Sie beginnt damit, daß zwischen Inhibitor und Enzym ein loser Komplex gebildet wird. Im weiteren Verlauf findet eine intramolekulare Veränderung des Alpha-2-Makroglobulins statt, die letztendlich zur Einschließung des Enzyms führt und somit zu dessen Isolation. Diese Art der Inhibition fällt noch durch eine weitere Tatsache auf. Die Interaktion des "gefangenen" Enzyms mit räumlich großen Substratmolekülen wird durch die sterische Anordnung des "Käfigs" unterbunden; mit kleinen Molekülen jedoch, die sozusagen durch die "Maschen" schlüpfen, kann eine Reaktion erfolgen (7, 67, 171).
Die zweite Möglichkeit ist die der "Covalent-Linking-Reaction". Es konnte gezeigt werden, daß manche Proteinasen über Nukleophile kovalente Bindungen mit Alpha-2-Makroglobulin eingehen, aber auch hierbei wird die Reaktionsfähigkeit des Enzyms mit kleinen Molekülen nicht unterbunden.
Die dritte Möglichkeit wird als "Adherence Reaction" bezeichnet. Diese Art der Bindung kommt weitgehend durch ionische und hydrophobe Wechselwirkungen zustande. Die Verbindung verhindert nicht die "Trapping Reaction" mit anderen Proteinasen und ist, im Gegensatz zu den beiden zuvor beschriebenen Arten, reversibel (7, 171).

Über die physiologische Rolle des Alpha-2-Makroglobulins besteht immer noch keine vollständige Klarheit. Es findet sich eine Erhöhung seiner Serumkonzentration bei Herzin-

farkt, Prostata-Karzinom, nephrotischem Syndrom, Agammaglobulinämie, Diabetes mellitus, Lebererkrankungen, Ataxia teleangiectasia, Mongolismus, Zollinger-Ellison-Syndrom, atopischer Dermatitis, eine Erniedrigung bei Plasmocytom, Sepsis und chronischer Polyarthritis (38, 58, 67, 171). Von den meisten Autoren wird es jedoch beim Menschen nicht als Akute-Phase-Protein angesehen (171).

Der Einfluß von Alpha-2-Makroglobulin auf die Blutgerinnung und Fibrinolyse scheint unter normalen Umständen keine sehr große Rolle zu spielen. Erst wenn die anderen Inhibitoren erschöpft sind, könnte es bedeutsam für die Regulation dieser Systeme werden.

Weiterhin ungeklärt ist, welche physiologische Bedeutung man der Tatsache zuzumessen hat, daß Alpha-2-Makroglobulin anscheinend Trägermolekül für Hormone wie Insulin, Wachstumshormon und andere ist (121).

Die wichtigste Eigenschaft des Alpha-2-Makroglobulins ist wohl seine Bindungsfähigkeit mit den meisten Proteinasen. Von großer Bedeutung ist dabei, daß die entstandenen Inhibitor-Enzym-Komplexe sehr schnell von den Zellen des Retikulo-endothelialen Systems eliminiert werden (26, 171). Die Eliminations-Halbwertszeit beträgt nur 10-12 Minuten. Weiterhin gibt es einige Anhaltspunkte für die Theorie, daß auch Enzyme aus anderen Enzym-Inhibitor-Komplexen (z.B. mit Antiplasmin oder Alpha-1-Antitrypsin) auf Alpha-2-Makroglobulin übertragen werden können (38). Dies würde einerseits die Enzyme schneller der intrazellulären Verdauung zuführen, andererseits die vorher gebundenen Inhibitoren für neue Aufgaben freisetzen.

8. Fibronectin

1948 wurde erstmalig von Morrison, Edsall und Miller (113) ein Protein isoliert, dem sie den Namen "cold-insoluble globulin" gaben.
In den darauffolgenden Jahren wurden viele Proteine beschrieben, die, wie sich dann herausstellte, strukturell und immunologisch diesem "cold-insoluble globulin" sehr ähnlich, wenn nicht sogar mit diesem identisch waren. Sie werden heute alle unter dem Namen Fibronectin zusammengefaßt. Im einzelnen sind dies:

- large external transformation-sensitive protein (LETS)
- soluble fibroblast antigen (SF-antigen)
- cell surface protein (CSP)
- cell adhesion factor (CAF)
- galactoprotein a
- Z (von den Autoren nicht näher definiert)
- cold-insoluble protein (CIg)
- opsonic protein
- cell spreading factor
- anti-gelatin factor
- microfibrillar protein
- cell-attachment-factor (c-CAP) (60, 115).

Fibronectin ist ein "high molekular weight glykoprotein" mit einem Molekulargewicht von ca. 450000 Dalton (115). Seine Plasmakonzentration beträgt ca. 330 µg/ml (116). Außerdem findet man es auf vielen Zelloberflächen, in Extrazellulärflüssigkeiten, im Bindegewebe und den meisten Basalmembranen (85, 115, 119). Fibronectin wird in vielen Zellen synthetisiert, so in: Fibroblasten, Astroglia-Zellen, Schwann'schen Zellen, Endothelzellen, Chondrozyten, Myoblasten und bestimmten Epithelzellen (78, 115).

Fibronectin gilt als der Hauptfaktor der Bindegewebsmatrix. Es vermittelt den Zellkontakt und hat vermutlich Anteil

an der Kontrolle von Zellwachstum und -bewegung (78, 85, 117, 187).

Eine weitere Funktion hat Fibronectin bei der Blutgerinnung. So findet man es in den Alpha-Sekretgranula der Blutplättchen. Nach Reaktion der Plättchen mit Thrombin oder Kollagen werden bis zu 50 % des Fibronectins ausgeschüttet, welches dann vermutlich für die Plättchenaggregation sowohl untereinander als auch an verletzte Gefäßwände (mit freiliegendem Kollagen) verantwortlich ist (60, 115, 187).

Fibronectin kann durch Katalyse von Faktor XIII zu Fibronectin-Polymeren oder Fibronectin-Fibrin-Komplexen vernetzt werden. Auch dies unterstützt die Bildung von Fibrinthromben (85, 115, 119). Ebenfalls katalysiert Faktor XIII die Vernetzung von Fibronectin und Kollagen. Die Reaktion kann von Fibrinogen gehemmt werden, genauso wie dies auch im umgekehrten Fall möglich ist (115, 119). Die Fibronectin-Kollagen-Komplex-Bildung hat möglicherweise eine wichtige Funktion bei der Wundheilung und Bindegewebsregeneration (119).

Eine andere Rolle fällt Fibronectin durch seine Eigenschaft zu, als Opsonin zu wirken. So ist es in der Lage, mit denaturiertem Kollagen bedeckte Thrombozyten für Makrophagen erkenntlich zu machen. Auch die Bindung von Fibrin(ogen) an Makrophagenoberflächen soll durch die Vermittlung von Fibronectin zustande kommen. Diese Tatsachen sind für die Beseitigung von Fibrinkoageln von entscheidender Bedeutung (60, 115).

Eine weitere Eigenschaft des Fibronectins ist, zusammen mit Heparin und sowohl mit als auch ohne Fibrinogen sogenannte Kryopräzipitate zu bilden (115, 161).

Weithin ungeklärt sind bisher die Ursachen für die Tatsache, daß die Fibronectinkonzentration im Blut während septischen Zuständen, nach Trauma oder Operation, bei disseminierter intravasaler Gerinnung, nach Blockade des Retikulo-endothelialen Systems durch Injektion von Kolloiden, signifikant abfällt (60, 115).

9. IgG

IgG kommt im Serum in einer Konzentration von 6-16 mg/ml vor. Es stellt 75-80 % der gesamten Immunglobuline dar (13, 174). Zum chemischen Aufbau wird auf die Besprechung in Kapitel B, Teil 1 verwiesen. IgG ist in der Lage, das Komplementsystem zu aktivieren (77), es kann die Plazentaschranke und in gewissem Maße auch das Nierenfilter passieren. IgG ist an Opsonierungsvorgängen und der Phagozytose beteiligt. Weiterhin reguliert es in Form einer Selbstkontrolle die Synthese von IgG (13, 110, 156, 174).

Die Gruppe des Immunglobulins G kann in vier Subklassen unterteilt werden, die sich hauptsächlich durch die Anzahl und Lage der Disulfidbrücken unterscheiden (174). Der relative Anteil der Unterklassen an IgG beträgt: IgG1 65-70 %, IgG2 23-28 %, IgG3 4-7 %, IgG4 3-4 % (12).
Biologische Unterschiede finden sich vor allem im Komplementbindungs- und -aktivierungsvermögen, wobei die Subklasse IgG4 die geringste Wirksamkeit zeigt. Die Antikörper der Subklassen IgG1 und IgG3 können im Gegensatz zu IgG2 und IgG4 an Makrophagen binden und somit die Phagozytose wirkungsvoll einleiten (174).

Interessant ist, daß der angeborene selektive IgA-Mangel häufig nur dann klinische Symptome aufweist, wenn gleichzeitig ein selektiver IgG2-Mangel hinzutritt (174). Über

Störungen der IgG-Konzentration im Blut informiert Kapitel B, Teil 3.

10. IgM

Die Serumkonzentration von IgM beträgt 0,5-2 mg/ml. Die H-Ketten des IgM besitzen im Gegensatz zu IgG und IgA fünf Domänen (156). Das gesamte IgM besteht aus fünf zu einem Pentamer zusammengesetzten 7S-Einheiten (Molekulargewicht ca. 70000 Dalton), die durch ein Peptid von etwa 25000 Dalton, das als J-(junction)Kette bezeichnet wird, zusammengehalten werden (174). Das Molekulargewicht von IgM beträgt 900000 Dalton. Es wird daher oft als Makroglobulin betitelt (174).

IgM gilt als der natürliche Antikörper der ersten Abwehrphase, der sogenannten Primärreaktion. Es besitzt eine besonders hohe Wirksamkeit bei der Auflösung von Bakterien (110, 156, 174). IgM ist in der Lage, das Komplementsystem zu aktivieren und hat außerdem agglutinierende Eigenschaften (110). Im Gegensatz zu IgG gibt es für IgM keinen negativen Rückkopplungsmechanismus zwischen seiner Blutkonzentration und der Neubildung der Antikörper. Es konnte im Gegenteil eine Form der positiven Feedback-Wirksamkeit beschrieben werden, da IgM vermutlich die Antigen-Lokalisierung von speziellen Zellen des Retikulo-endothelialen Systems in der Milz fördert (156).

IgM ist bei den meisten Erkrankungen, die mit einer verringerten IgG-Konzentration einhergehen, ebenfalls erniedrigt. So z.B. nach Operationen (37), bei multiplem Myelom, chronisch lymphatischer Leukämie (136) und bei Patienten unter Chemotherapie (143).
Besonders hohe Blutwerte an IgM finden sich bei der primä-

ren Makroglobulinämie (M. Waldenström). Die Erkrankung beruht auf einer monoklonalen neoplastischen Proliferation IgM-bildender B-Zellen. Aufgrund funktioneller Unwirksamkeit der Paraproteine entsteht trotz der hohen Immunglobulin-Konzentration das Bild eines sekundären Antikörpermangelsyndroms (35).

11. IgA

Immunglobulin A wurde erstmalig 1959 beschrieben (166). IgA kommt in verschiedenen Formen vor. Einer monomeren (7S), einer dimeren (9S) und in polymeren Formen (11S und 13S) (174). Im Serum enthaltene IgA-Moleküle sind monomer. Ihr Molekulargewicht beträgt 150000 Dalton. Sie bestehen aus zwei leichten Ketten vom κ-bzw. λ-Typ und zwei schweren Ketten vom α-Typ. Durch Strukturunterschiede in den α-Ketten kann man sie in zwei Unterklassen aufteilen, IgA1 und IgA2. Die IgA2-Moleküle können noch einmal in zwei weitere Gruppen getrennt werden (12). Die Serumkonzentration von IgA liegt beim Erwachsenen bei 250 mg/dl. Das Neugeborene besitzt kein IgA (166). Die Halbwertszeit im Blut beträgt sechs Tage (12).

Serum-IgA ist in der Lage, den alternativen Weg der Komplementaktivierung in Gang zu setzen (174). Weiterhin ist es zur Virusneutralisation fähig (166). Seine physiologische Rolle ist jedoch noch nicht klar.

Anders ist dies bei dem sogenannten sekretorischen IgA. Es besteht in der Hauptsache aus Dimeren, die sich aus zwei 7S-IgA-Monomeren und zwei weiteren Proteinen, der J-Kette und dem Sekretstück, aufbauen.
Sekretorisches IgA wird in der Hauptsache in Plasmazellen der Lamina propria des Respirations- und Gastrointestinal-

traktes gebildet. Auch die J-Kette wird hier synthetisiert. Das Sekretionsstück, ein Protein mit einem Molekulargewicht von 71000 Dalton, wird jedoch von sekretorischen Epithelzellen vom Serosatyp hergestellt.
Bei seiner Wanderung in Richtung Lumen durchdringt das IgA diese Epithelschicht und geht hier die Bindung mit dem Sekretstück ein (12, 131, 174). Die physiologische Funktion dieser Bindung liegt darin, daß durch sie die Säurestabilität des IgA sowie ein Schutz gegen proteolytische Enzyme erreicht wird (12, 131, 174).

Sekretorisches IgA findet sich hauptsächlich in externen Sekreten wie: Speichel, Tränenflüssigkeit, Nasensekret, Schweiß, Kolostrum, Galle, Urin, Tracheobronchial-, Intestinal- und Zervikal-Flüssigkeiten.
Sekretorisches IgA besitzt nicht die Fähigkeit, Komplement zu aktivieren (174). Seine physiologische Bedeutung ist der Schutz von Oberflächen. Es verhindert die Adhärenz von Mikroorganismen an Epitheloberflächen und erschwert dadurch deren Eindringen in den Körper (131). Weiterhin ist es auch an der Neutralisation bakterieller Toxine beteiligt (174).

Selektiver IgA-Mangel, der mit einer Häufigkeit von 1:500 bis 1:700 in der Bevölkerung vorkommt und dessen Erbmodus erst in Anfängen geklärt ist, geht sehr oft mit folgenden Erkrankungen einher:

- chronische respiratorische Infektionen
- Autoimmunkrankheiten wie
  - systemischer Lupus erythematodes
  - rheumatoide Arthritis
  - perniziöse Anämie
  - Thyreoiditis
- Malabsorptionssyndrome wie
  - kindliche Zöliakie
  - nichttropische Erwachsenensprue (21, 54).

Erhöhte IgA-Werte findet man beim IgA-Plasmozytom (20), der IgA-Nephritis, bei der sich IgA-Ablagerungen in den Glomeruli befinden (135), und der fortgeschrittenen Leberzirrhose (166).

Eine große Bedeutung hat IgA in der Transfusionsmedizin. So wurden bei Patienten mit selektivem IgA-Mangel anti-IgA-Antikörper gefunden, die meist zur IgG-Klasse gehören. Später zeigte sich, daß auch Personen mit normalen IgA-Werten in der Lage waren, solche Antikörper zu produzieren (63, 100, 175, 176). Unklar ist noch wie es zu dieser Immunisierung kommt. Nur für einige Patienten konnte ein vorheriger Kontakt mit IgA nachgewiesen werden. Diskutiert wird heute die Möglichkeit einer Immunisierung des Foeten durch mütterliches IgA (55, 63, 100).
Diese anti-IgA-Antikörper sind in der Lage, Komplement zu binden und können bei Kontakt mit IgA, z.B. durch Bluttransfusion zu anaphylaktoiden Nebenreaktionen führen (55, 100, 175).

C) MATERIAL UND METHODEN

1. Präparate

Untersucht wurden 7S-Immunglobulinpräparationen zur intravenösen Anwendung von acht unterschiedlichen Herstellern (bezeichnet mit a-h). Hierfür standen pro Hersteller je zehn Flaschen der gleichen Charge zur Verfügung. Bis auf c und h lagen alle Präparate als Trockensubstanz vor, die erst in einer beigefügten Flüssigkeit gelöst werden mußte. Dadurch ergab sich bei b eine 3 %ige, bei allen anderen Lösungen eine 5 %ige Konzentration der Immunglobuline.
Die Ergebnisse von Präparat b wurden jedoch später auch auf eine 5 %ige Lösung umgerechnet, um eine direkte Vergleichsmöglichkeit zu erhalten.
Nachfolgend soll kurz auf die Herstellungsmethoden und Bestandteile der einzelnen Präparate, soweit sie den Produktinformationen entnommen werden können, eingegangen werden.

Präparat a: Ausgangsmaterial ist die Fraktion II nach Cohn (Äthanolfraktionierung), modifiziert nach Deutsch, die aus einem Plasmapool von mehr als 1000 gesunden Spendern hergestellt wurde. Die Weiterbehandlung erfolgt durch Adsorption an DEAE-Sephadex. Stabilisiert wird die Lösung durch hohe Zugabe von Human-Albumin (132). Das Ergebnis ist ein unmodifiziertes Immunglobulin, welches geringe antikomplementäre Aktivität zeigt, zu etwa 90 % aus IgG besteht (mit normaler Verteilung der IgG-Subklassen), einen geringen Gehalt an IgG-Polymeren und einen IgA-Anteil unter 0,02 % vom gesamten Proteingehalt besitzt.
Das Produkt ist frei von Konservierungsstoffen und enthält neben dem schon erwähnten Albumin noch Glucose, Aminoessigsäure, Acetyltryptophan und Natriumcaprylat.

Präparat b: Ausgangsmaterial ist eine durch fraktionierte Fällung mittels Äthylalkohol nach dem Verfahren von Kistler und Netschmann gewonnene Fraktion (entspricht der Cohn-Fraktion II) aus menschlichem Plasma, das aus mindestens 2000 gesunden Spendern gepoolt wurde. Die Weiterbehandlung geschieht durch Inkubation bei pH 4 über 18 Stunden bei 37°C. Das Produkt wird durch Zugabe geringer Mengen von Pepsin stabilisiert, dessen Aktivität durch eine anschließende Neutralisationsbehandlung inaktiviert wird (64, 132).
Das Präparat besitzt einen Reinheitsgrad von mindestens 95 %, besteht zu 90 % aus monomerem IgG, einem geringen Anteil an Spaltprodukten, dimerem und polymerem IgG, Spuren von IgA und IgM. Die IgG-Subklassenverteilung entspricht der Norm. Zusätzlich enthalten sind Saccharose und Spuren von Natriumchlorid, jedoch keine Konservierungsmittel.

Präparat c: Ausgangsmaterial ist eine Modifikation der Cohn-Fraktion II. Diese wird mittels Dithiothreitol reduziert. Eine Reduktion durch Oxidation wird durch Zugabe von Jodacetamid verhindert. Zur Stabilisierung der Lösung wird 0,1 Mol Glykokoll und 10 % Maltose hinzugefügt (160).
Die Reinheit des Produkts beträgt ca. 98 %, mindestens 80 % ist monomeres IgG. Hinzu kommt ein geringer Anteil aus dimerem und polymerem IgG sowie Spuren von IgA. Das Präparat enthält keine Konservierungsmittel.

Präparat d: Es wird aus einem Mischserum von mindestens 1000 gesunden Blutspendern gewonnen. Dem Isolierungsverfahren geht eine Adsorption an Aerosil und die Behandlung mit Beta-Propiolacton voraus, welches jedoch im Endprodukt nicht mehr enthalten ist (132, 157).
Die gebrauchsfertige Lösung enthält über 90 % IgG, daneben geringe Mengen IgA und IgM, weiterhin Glucose

und Natriumchlorid, aber keine Konservierungsmittel.

Präparat e: Die Herstellung erfolgt durch ein limitiertes Sulfitolyseverfahren, bei dem die Interketten-Disulfid-Brücken der Antikörper teilweise gespalten werden (59, 75, 104).
Die fertige Lösung hat einen Reinheitsgrad von mindestens 95 % und enthält neben Immunglobulinen Glykokoll als Stabilisator und geringe Mengen an Natriumchlorid. Kein Konservierungsmittel.

Präparat f: Das Produkt entsteht durch Fraktionierung mit Polyäthylenglykol in Kombination mit Hydroxyäthylstärke aus einem Mischplasma von mehr als 10000 Spendern (157).
Das Präparat besteht zu 85-94 % aus monomerem IgG und einem geringen Teil aus dimerem IgG und IgA. Anteile mit höherem Molekulargewicht liegen unter 1 %. Zusätzlich enthält die Lösung Glucose. Kein Konservierungsmittel. Das Hepatitis-B-assoziierte Antigen (HBsAg) wird im RIA der dritten Generation nicht aufgewiesen.

Präparat g: Dieses Präparat entspricht in seiner Herstellung und Zusammensetzung weitgehend Präparat f und muß deshalb nicht gesondert erläutert werden.

Präparat h: Es wird durch Fraktionierung bei 42°C mittels Ammonsulfat aus einem Plasmapool von mindestens 1000 Spendern hergestellt (157).
Das Produkt enthält neben IgG eine eventuell größere Menge an IgA sowie Aminoessigsäure, geringe Mengen an Natriumchlorid und Spuren von IgM. Keine Konservierungsmittel.

2. Materialien

Die photometrischen Untersuchungen wurden mit einem Photometer Typ PL 4 der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, BRD durchgeführt. Je nach Bestimmungmethode wurden Makro-Einmalküvetten der Firma Greiner, Nürtingen, BRD oder Halbmikro-Einwegküvetten benutzt. Die nephelometrischen Untersuchungen wurden mit einem Laser-Nephelometer der Firma Behringwerke AG, Marburg, BRD durchgeführt. Für die Probenansätze wurden 120 LN Universalküvetten der gleichen Firma benutzt. Zur Filtration wurden Gelman Acrodisc Filter, 0,45 µm Poren aus Ann Arbor, Michigan, USA verwendet.

Antiplasmin, C1-Inhibitor, Alpha-1-Antitrypsin und Alpha-2-Makroglobulin wurden mit Hilfe chromogener Substrate untersucht. Zur Bestimmung von Antiplasmin wurde das Substrat H-D-Val-Leu-Lys-pNA·2HCL (S-2251), zur Bestimmung von C1-Inhibitor das Substrat H-D-Pro-Phe-Arg-pNA·HCL (S-2302), jeweils der Firma DEUTSCHE KABI GmbH, München, BRD verwandt. Alpha-1-Antitrypsin wurde mittels Benzoyl-D,L-arginin-p-nitroanilid (BAPA) und Alpha-2-Makroglobulin mit Z-Val-Gly-Arg-pNA (Chromozym TRY), jeweils der Firma Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, BRD bestimmt. Für die Kontrollen wurde Standard-Human-Plasma der Firma Behringwerke AG, Marburg, BRD oder PreciChrom I/II der Firma Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, BRD verwendet.

C1-Inhibitor, Alpha-1-Antitrypsin, Alpha-2-Makroglobulin, Fibronectin, IgG, IgM, IgA wurden mit Hilfe der Laser-Nephelometrie untersucht. Dazu wurden die jeweils entsprechenden Antiseren der Firma Behringwerke AG, Marburg, BRD benutzt. Als Kontrollen dienten Protein-Standard-Plasma (human), LN Protein-Standard-Serum (human) oder Kontroll-Plasma (human) derselben Firma.

Die Rechnungen wurden auf einem HP 85 Rechner der Firma

Hewlett Packard durchgeführt. Die statistischen Auswertungen übernahm das Rechenzentrum Tübingen, wobei hier besonders Herrn Professor Schubring zu danken ist.

3. Methoden

3.1. Untersuchung mittels chromogener Substrate

3.1.1. C1-Inhibitor

Testprinzip (29):

Zu C1-Inhibitor wird Kallikrein im Überschuß gegeben. Es entsteht ein Komplex aus C1-Inhibitor und Kallikrein. Zusätzlich verbleibt ein Rest freies Kallikrein, dessen Konzentration sich umgekehrt proportional zur Konzentration des C1-Inhibitors verhält. Dieses Kallikrein reagiert nun mit dem Substrat S-2302 unter Abspaltung von p-Nitroanilin, dessen Konzentration photometrisch bei 405 nm bestimmt werden kann.

C1-Inhibitor + Kallikrein (Überschuß) ----> (C1-Inhibitor · Kallikrein) + Kallikrein (Rest)

H-D-Pro-Phe-Arg-pNA + H_2O $\xrightarrow{\text{Kallikrein}}$ H-D-Pro-Phe-Arg-OH + pNA

Abb. 2: Testprinzip der C1-Inhibitor-Bestimmung mittels chromogener Substrate

Reagenzien:

a) Substrat S-2302 (H-D-Pro-Phe-Arg-pNA·HCL):
Die im Test-Kit enthaltene Trockensubstanz (25 mg) wird in 20 ml dest. H_2O gelöst. Die entstehende Lösung hat eine Konzentration von 2 mmol/l und ist bei +2° bis +5°C maximal

6 Monate haltbar.

b) Plasma Kallikrein:
Das Plasma Kallikrein wird mit 5 ml 0,5 %igem Albumin gelöst. Für jede Meßreihe wird diese Lösung 1:2 mit Puffer verdünnt und bei +18° bis +22°C gelagert.

c) Puffer:
Der dem Test-Kit entnommene Puffer enthält:

Tris 6,1 g (50 mmol/l)
NaCl 21,1 g (361 mmol/l)
Polybrene 20 mg
dest. H_2O 800 ml

Die Pufferlösung wird mit 1 mol/l HCl bei 25°C auf pH 7,8 eingestellt und mit dest. Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

d) 50 %ige Essigsäure

Testdurchführung:

100 µl der Infusionslösung werden mit 1900 µl Puffer verdünnt. 200 µl dieser Ausgangslösung werden im Wasserbad in 3-4 Minuten auf 37°C erwärmt. Dann gibt man 200 µl 18°-22°C warmer Plasma Kallikrein-Lösung hinzu. Die Lösung wird gemischt und 5 Minuten bei 37°C inkubiert. Danach werden 200 µl 37°C warmes S-2302 hinzugegeben, gemischt und für weitere 4 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Reaktion wird dann durch Zugabe von 200 µl 50 %iger Essigsäure und sofortigem Mischen gestoppt.
Für jede Probe wird ein Probenleerwert hergestellt, der aus den gleichen Substanzen wie die Probe besteht, nur werden sie in umgekehrter Reihenfolge und ohne Inkubation gemischt. Im Photometer wird nun die Extinktionsdifferenz zwischen Probe und Probenleerwert bei 405 nm bestimmt. Weiterhin muß für jede Testreihe ein Versuchsgang mit reiner Pufferlösung anstatt dem Gemisch aus Puffer und Infusionslösung

durchgeführt werden. Von den hierbei erhaltenen Extinktionswerten werden nun die bei den vorigen Versuchen erzielten Extinktionen abgezogen. Der daraus resultierende Wert wird mit 2080 multipliziert, um das endgültige Ergebnis zu erhalten.

3.1.2. Antiplasmin

Testprinzip (28):

Zu der zu untersuchenden Lösung wird Plasmin im Überschuß zugegeben. Eine der vorhandenen Antiplasminkonzentration proportionale Plasminmenge wird inhibiert. Das restliche, nicht inhibierte Plasmin wirkt auf das Substrat S-2251 und spaltet p-Nitroanilin ab. Dieses kann dann im Photometer bei 405 nm gemessen werden.

Antiplasmin + Plasmin -----> (Antiplasmin · Plasmin)
(Überschuß) + Plasmin (Rest)

Plasmin + chromog. Substrat S-2251 ----> pNA-Freisetzung

Abb. 3: Testprinzip der Antiplasmin-Bestimmung mittels chromogener Substrate

Reagenzien:

a) Substrat S-2251:
Das im Test-Kit enthaltene lyophilisierte Substrat (19 mg) wird mit 10 ml dest. H_2O gelöst. Diese Lösung hat dann eine Konzentration von 3,5 mmol/l und ist bei +2° bis +5°C max. 6 Monate haltbar.

b) Plasmin-Solvent:
Im Test-Kit enthaltene gebrauchsfertige sterile Lösung (10 ml) von Glyzerin + HCl 2 mmol, 1+1.

c) Plasmin:
Das dem Test-Kit entnommene lyophilisierte humane Plasma (22 nkat) wird mit 10 ml Plasmin-Solvent gelöst. Die erhaltene Lösung hat eine Plasminkonzentration von 2 nkat S-2251/ml und ist bei +2° bis +8°C ein Monat haltbar. Vor Gebrauch muß die Lösung mindestens eine Stunde bei 25°C erwärmt werden.

d) Puffer:
Im Test-Kit enthaltener gebrauchsfertiger Puffer: 75 ml steriler TRIS-Puffer 0,05 mol/l (pH 7,4).

Eichkurve:

Zur Auswertung der Ergebnisse muß eine Eichkurve wie folgt erstellt werden:
- 500 µl humanes Normalplasma mit 1900 µl Puffer verdünnen
- Ansetzen einer Verdünnungsreihe für die Standardkurve.

Standard Nr.	Puffer (l)	verdünnt. Normal-Plasma (l)	Antiplasmin-Konz. % vom Normal-Plasma
S-1	2500	0	0
S-2	2400	100	25
S-3	2300	200	50
S-4	2200	300	75
S-5	2100	400	100
S-6	2000	500	125

Tab. 4: Verdünnungskurve zur Erstellung einer Antiplasmin-Eichkurve

Testdurchführung:

Aufgrund der sehr niedrigen Konzentrationen mußte auf eine Probenvorverdünnung verzichtet werden.
600 µl der unverdünnten Probe werden 3-6 Minuten bei 37°C

inkubiert. Dann werden 200 µl Plasmin (Raumtemperatur) dazugegeben, gemischt und 20 sec. bei 37°C inkubiert. Daraufhin werden 200 µl S-2251 (37°C) hinzugegeben, gemischt und weitere 120 sec. bei 37°C inkubiert. Jetzt wird die Reaktion durch Zugabe von 100 µl 50 %iger Essigsäure und sofortigem Mischen gestoppt. Zur Herstellung eines Probenleerwerts werden 600 µl der Probe mit 100 µl 50 %iger Essigsäure und 400 µl dest. H_2O gemischt.
Im Photometer kann nun die Extinktionsdifferenz zwischen Probe und Probenleerwert bei 405 nm gemessen werden. Die entsprechende Antiplasmin-Konzentration wird auf der Eichkurve abgelesen. Aufgrund der fehlenden Probenvorverdünnung muß dieser Wert jedoch noch durch den Faktor 30 dividiert werden, um das Endergebnis zu erhalten.

3.1.3. Alpha-1-Antitrypsin

Testprinzip (16):

Alpha-1-Antitrypsin reagiert mit im Überschuß zugegebenem Trypsin. Es entsteht ein Alpha-1-Antitrypsin-Trypsin-Komplex und ein Rest freies Trypsin, das mit BAPA reagiert, wobei Benzoylarginin und p-Nitroanilin entsteht. Die dabei auftretende Farbänderung kann im Photometer bei 405 nm bestimmt werden.

Alpha-1-Antitrypsin + Trypsin (Überschuß) ----> Trypsin(Rest) + Alpha-1-Antitrypsin-Trypsin-Komplex

Benzoyl-D,L-arginin-p-nitroanilid(BAPA) ---Trypsin---> Benzoylarginin + p-Nitroanilin

Abb. 4: Testprinzip der Alpha-1-Antitrypsin-Bestimmung mittels chromogener Substrate

Reagenzien:

a) Substrat:
Im Test-Kit enthaltene Lösung wird mit 5 ml dest. H_2O verdünnt. Die fertige Lösung enthält 20 mmol/l BAPA und soll bei Raumtemperatur gelagert werden.

b) Trypsin:
Die dem Test-Kit entnommene Trockensubstanz wird mit 2,5 ml dest. H_2O gelöst. Die entstehende Lösung hat eine Konzentration von $\geq$0,9 U/ml und ist bei +2° bis +8°C zwei Wochen haltbar.

c) Puffer:
Der im Test-Kit mitgegebene Puffer ist gebrauchsfertig und enthält: Tris/HCl 100 mmol/l, pH 8,0
NaCl 150 mmol/l.

d) Reagenzgemisch:
20 Teile des Puffers werden mit 1 Teil Trypsin versetzt.

Testdurchführung:

Um in den Bereich gut meßbarer Konzentrationen zu gelangen, wurden die zu untersuchenden Proben mit dem Standard-Plasma PreciChrom im Verhältnis 1:1 vermischt. Ein Teil dieser Lösung wird nun mit 10 Teilen 0,9 %iger Natriumchloridlösung verdünnt. 0,1 ml dieser Lösung wird mit 2 ml des Reagenzgemisches vermengt und 5 Minuten bei 25°C inkubiert. Dann werden 0,2 ml des Substrats hinzugegeben und sofort gemischt. Die Extinktion (gegen Luft gemessen) wird zum ersten Mal nach 60 sec., dann nach weiteren 30, 60 und 90 sec. im Photometer bei 405 nm abgelesen. Die Extinktionsdifferenzen pro 30 sec. werden gemittelt und ergeben $\Delta E_{Probe}/30$ sec.. Weiter wird ein Trypsinleerwert (TL) benötigt. Dazu werden 0,1 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung mit 2 ml des Reagenzgemisches

vermischt und 5 Minuten bei 25°C inkubiert. Danach werden 0,2 ml Substrat zugegeben und gemischt. Die Ablesung am Photometer erfolgt wie oben. Es ergibt sich ein Wert $\Delta E_{TL}/30$ sec.. Die Berechnung geschieht nun nach der Formel:

$$\Delta E_{TL}/30 \text{ sec.} - \Delta E_{Probe}/30 \text{ sec.} = \Delta E_{Antitrypsin + PreciChrom}/30 \text{ sec.}$$

Um das zur Probe hinzugegebene PreciChrom wieder aus dem Ergebnis herausziehen zu können, muß der ganze Versuch noch einmal mit reinem PreciChrom ausgeführt werden. Man erhält dadurch einen Wert $\Delta E_{PreciChrom}/30$ sec.. Dieser kann jetzt von dem oben gewonnenen Wert abgezogen werden. Das Ergebnis ist $\Delta E_{Antitrypsin}/30$ sec.. Dieses muß daraufhin mit dem Faktor 52,1 multipliziert werden, um das Resultat zu erhalten, welches jedoch aufgrund der Anfangsverdünnung mit PreciChrom noch einmal mit dem Faktor 2 multipliziert werden muß.

3.1.4. Alpha-2-Makroglobulin

Testprinzip (17, 25):

Alpha-2-Makroglobulin reagiert mit im Überschuß gegebenem Trypsin zu einem Alpha-2-Makroglobulin-Trypsin-Komplex und einem Rest freien Trypsins. Dieser Rest wird von Aprotinin in einem Aprotinin-Trypsin-Komplex gebunden. Der Alpha-2-Makroglobulin-Trypsin-Komplex ist dann in der Lage, Z-Val-Gly-Arg-pNA zu Z-Val-Gly-Arg-OH und p-Nitroanilin umzuwandeln. Die Farbänderung kann im Photometer bei 405 nm bestimmt werden.

Alpha-2-Makroglobulin + Trypsin (Überschuß) ----→ Alpha-2-Makroglobulin-Trypsin + Trypsin(Rest)

Trypsin(Rest) + Aprotinin -----> Aprotinin-Trypsin-Komplex

Z-Val-Gly-Arg-pNA $\xrightarrow[\text{Trypsin}]{\text{Makroglobulin}}$ Z-Val-Gly-Arg-OH + p-Nitroanilin

Abb. 5: Testprinzip der Alpha-2-Makroglobulin-Bestimmung mittels chromogener Substrate

Reagenzien:

a) Substrat Chromozym TRY:
Die im Test-Kit gelieferte Trockensubstanz wird mit 3 ml dest. H_2O gelöst. Die Konzentration der Lösung beträgt 5 mmol/l. Die Haltbarkeit liegt bei +2° bis +8°C bei drei Tagen, bei +15° bis +25°C bei 24 Stunden.

b) Aprotinin:
Die im Test-Kit enthaltene Trockensubstanz wird mit 4 ml dest. H_2O gelöst. Die Lösung hat eine Konzentration ≥25 IU/ml und ist bei +2° bis +8°C vier Wochen, bei +15° bis +25°C zwei Tage haltbar.

c) Trypsin:
Die dem Test-Kit entnommene Trockensubstanz wird mit 2 ml dest. H_2O gelöst. Die Lösung hat eine Konzentration ≥10 U/ml. Die Haltbarkeit beträgt bei +2° bis +8°C vier Wochen, bei +15° bis +25°C zwei Tage.

d) Puffer:
Der im Test-Kit mitgegebene Puffer ist gebrauchsfertig und enthält: Tris HCl 100 mmol/l, pH 8,0
NaCl 150 mmol/l.

e) Reaktionsgemisch:
Puffer und Trypsin werden im Verhältnis 10:1 gemischt. Die Lösung ist bei +2° bis +8°C zwei Wochen haltbar.

Testdurchführung:

Um in den Bereich meßbarer Werte zu kommen, wird die Probe im Verhältnis 1:1 mit PreciChrom vermischt. 1 Teil dieser Lösung wird mit 20 Teilen 0,9 %iger NaCl-Lösung verdünnt. 0,05 ml dieser Lösung werden mit 2 ml des Reaktionsgemisches vermengt und 1 Minute bei 25°C inkubiert. Danach werden 0,1 ml Aprotinin hinzugegeben, gemischt und für weitere 2 Minuten inkubiert. Zuletzt werden 0,2 ml Chromozym TRY hinzugefügt, gemischt und noch 1 Minute inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit und nach weiteren 1, 2 und 3 Minuten, wird die Extinktion (gemessen gegen Luft) abgelesen. Daraus kann der Mittelwert der Extinktionsdifferenzen ΔE_{Gesamt}/min. errechnet werden.
Um das PreciChrom aus dem Ergebnis entfernen zu können, muß ein weiterer Meßdurchlauf mit reinem PreciChrom als Ausgangslösung durchgeführt werden. Das hierbei errechnete $\Delta E_{PreciChrom}$/min. kann dann von dem oben erhaltenen Wert abgezogen werden. Man erhält $\Delta E_{Makroglobulin}$/min.. Diese Zahl wird zuerst mit dem Faktor 101,5 und dann, aufgrund der anfänglichen Verdünnung mit PreciChrom, noch einmal mit dem Faktor 2 multipliziert, um das endgültige Ergebnis zu erhalten.

3.2. Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

Die weiteren Parameter wurden mit Hilfe der Laser-Nephelometrie untersucht. Das Prinzip beruht auf folgenden Vorgängen. Zu der zu untersuchenden Lösung werden spezielle, gegen den gesuchten Stoff gerichtete Antikörper gegeben. Dabei entstehen Antigen-Antikörper-Komplexe. Wird nun diese Lösung mit intensivem monochromatischem Licht mit geringer Strahlendivergenz (10), wie es durch den hier verwendeten He-Ne-Laser erzielt wird, durchstrahlt, so tritt an diesen

Komplexen eine Lichtstreuung auf. Das Ausmaß der Streuung ist proportional zur Konzentration der Komplexe in der Lösung. Das gestreute Licht kann nun über verschiedene Linsen wieder gesammelt und über eine Photodiode in einen ablesbaren Wert umgewandelt werden (10, 11).
Im Gegensatz zu den Untersuchungen mit chromogenen Substraten werden hier die zu untersuchenden Stoffe, unabhängig von ihrer Aktivität, in der vollen Konzentration erfaßt. Für jeden gesuchten Stoff ist durch eine Verdünnungsreihe anhand eines Standardpräparates eine Referenzkurve zu ermitteln, mit deren Hilfe später die Auswertung erfolgt.

Da sich die Faktorenkonzentrationen in den hier untersuchten Präparaten meist erheblich von denjenigen der normalerweise mittels Laser-Nephelometrie untersuchten Flüssigkeiten unterscheiden, mußte sehr häufig von den vom Hersteller angegebenen Probenverdünnungen abgewichen werden. Um das richtige Konzentrationsverhältnis zu finden, wurden jeweils verschiedene Verdünnungen ausgemessen und verglichen. Das Ziel war es, in einen vernünftigen Meßbereich im Verlauf des aufsteigenden Teils der Heidelberger Kurve zu gelangen, da nur hier eine verwertbare Korrelation zwischen Streuungsintensität und Antigen-Antikörper-Komplex-Konzentration vorliegt. Die veränderten Probenverdünnungen wurden bei der Berechnung der Ergebnisse mit einkalkuliert. Da der Versuchsablauf bei allen Faktoren der gleiche ist, soll er hier nur einmal allgemein dargestellt werden (11). Bei den einzelnen Parametern werden dann nur noch Abweichungen, bzw. hier nicht erwähnte Daten, aufgeführt.

Die verwendeten Küvetten müssen zuerst darauf kontrolliert werden, ob ihr Eigenstreusignal über 0,3 Volt liegt. Diese werden aussortiert. Für die Herstellung der Referenzkurve werden die angegebenen Standard-Plasmapräparate entsprechend den Angaben des Herstellers mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt. Die zu untersuchenden Lösungen werden normaler-

weise im Verhältnis 1:101 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt. Die spezifischen Antiseren werden generell 1:5 mit isotonischer NaCl-Lösung verdünnt. Um Meßungenauigkeiten durch eventuell vorhandene Trübungen zu vermeiden, wurden alle angesetzten Lösungen vor dem eigentlichen Versuchsbeginn mittels Mikrofilter geklärt.
Zum Start der Reaktion werden 100 µl der Probenverdünnung mit 200 µl des verdünnten Antiserums gemischt, einmal geschüttelt und dann abgedeckt 1 Stunde stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wird mit Hilfe des Laser-Nephelometers der Streuungsgrad ermittelt und auf der Digitalanzeige in der Einheit Volt abgelesen. Dieser Wert muß nun mit der in gleicher Weise erstellten Referenzkurve verglichen werden, um das endgültige Ergebnis zu erhalten.

3.2.1. C1-Inhibitor

Die Verdünnungen für die Referenzkurve sind 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320. Die Proben wurden unverdünnt verwendet.

3.2.2. Alpha-1-Antitrypsin

Die Verdünnungen für die Referenzkurve sind 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640. Die Proben wurden unverdünnt verwendet.

3.2.3. Alpha-2-Makroglobulin

Die Verdünnungen für die Referenzkurve sind 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640. Die Proben von Präparat d wurden 1:11, diejenigen aus Präparat h 1:21 verdünnt. Alle anderen Proben wurden unverdünnt verwendet.

3.2.4. Fibronectin

Sowohl das Standard-Plasma wie auch die zu untersuchenden Proben sind vor Versuchsbeginn mit Lipoclean zu klären. Die Verdünnungen für die Referenzkurve sind 1:2,5, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80. Die Proben wurden unverdünnt verwendet. Die Werte können schon nach 30 Minuten abgelesen werden.

3.2.5. IgG

Die Verdünnungen für die Referenzkurve sind 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640. Die Proben wurden 1:201 verdünnt. Statt 100 µl beträgt das Probenvolumen hier nur 10 µl.

3.2.6. IgM

Die Verdünnungen für die Referenzkurve sind 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160. Alle Proben wurden unverdünnt verwendet.

3.2.7. IgA

Die Verdünnungen für die Referenzkurve sind 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320. Die Proben der Präparate a, c, h wurden unverdünnt verwendet. Die Proben aus Präparat b wurden 1:51, diejenigen aus Präparat d und e 1:101 und jene von Präparat f und g 1:11 verdünnt.

3.3. Statistische Auswertung

Von jeder der pro Firma zur Verfügung stehenden 10 Flaschen wurden je 2 Proben entnommen, um damit die Versuche durchzuführen. Aus den daraus sich ergebenden Doppelwerten wurden jeweils Mittelwerte gebildet, die die Grundlage für die Auswertung im Rechenzentrum ergaben.
Aufgrund dieser Werte konnte nun pro Firma und Parameter ein Mittelwert und die entsprechende Standardabweichung errechnet werden. Mit Hilfe des U-Tests nach Wittney wurden die bei der Untersuchung der einzelnen Parameter erzielten Ergebnisse unter den Präparaten verglichen. Das gleiche Rechenverfahren setzte man ein, um meine Werte mit denen mir freundlicherweise von Frau Karaus und Frau Hoffmann (86) zur Verfügung gestellten Ergebnissen ihrer Untersuchungen einer anderen Charge derselben Immunglobulinpräparate zu vergleichen.
Für die Gegenüberstellung der bei den Tests mit chromogenen Substraten gefundenen Werte und den Ergebnissen der Laser-Nephelometrie wurde der Wilkoxon-Test für abhängige Stichproben herangezogen.

3.4. Methodenkritik

Das Hauptproblem der Untersuchungen lag darin, daß die verwendeten Testmethoden für Lösungen mit weit höheren Faktorenkonzentrationen erarbeitet wurden und deshalb oft abgeändert werden mußten. So kann man nicht sagen, ob das Weglassen des normalerweise zur Probenvorverdünnung benutzten Puffers bei der Bestimmung von Antiplasmin Auswirkungen auf den Test hat. Ebenso können sich bei den Differenzmethoden, wie sie zur Bestimmung von Alpha-1-Antitrypsin und Alpha-2-Makroglobulin mittels chromogener Substrate herangezogen wurden, kleine Meßungenauigkeiten bei den einzelnen Schrit-

ten durch die aufwendigen abschließenden Berechnungen potenzieren. Solche Ungenauigkeiten sind jedoch gerade bei so minimalen Konzentrationen nicht auszuschließen, da schon allein die Skaleneinteilungen der Meßinstrumente oft nicht fein genug sind. Daher ist auch der Vergleich mit den Ergebnissen der Gruppe Karaus/Hoffmann (86) mit Vorsicht zu bewerten, da kleine individuelle Unterschiede bei der Versuchsdurchführung eventuell schon größere Unterschiede der gewonnenen Werte entstehen lassen. Bei der Gegenüberstellung der Ergebnisse der Laser-Nephelometrie und jenen der Bestimmung mittels chromogenen Substraten muß beachtet werden, daß aufgrund der erst späteren Verfügbarkeit eines Laser-Nephelometers die bereits gelösten Präparate für längere Zeit im Kühlfach gelagert werden mußten. Es kann nicht gesagt werden, inwieweit dies Veränderungen in den Konzentrationen der einzelnen Inhaltsstoffe ermöglicht hat.

D) ERGEBNISSE

Um die Besprechung der Ergebnisse zu erleichtern, werden die einzelnen Präparate nur durch die Buchstaben a bis h bezeichnet. Damit sie von denjenigen der von Karaus und Hoffmann (86) untersuchten Charge zu unterscheiden sind, werden jene mit a' bis h' gekennzeichnet (siehe auch Material und Methoden).

1. C1-Inhibitor

Die Präparate wurden zum einen mittels chromogener Substrate untersucht. Dabei fanden sich meßbare Konzentrationen bei c, d, e und h. Der höchste Wert ergab sich bei c, er ist signifikant größer als bei d, e, h. Die kleinste Konzentration wurde bei d gemessen. Sie ist signifikant kleiner als bei c, e, h. Die Werte von e und h liegen zwischen den beiden anderen, wobei derjenige von e größer als der bei h ist. Alle Werte unterscheiden sich signifikant voneinander.

C1-Inhibitor (U/l):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	0,0	0,0	a'	0,0	0,0
b	0,0	0,0	b'	0,0	0,0
c	7,274	1,498	c'	9,248	2,437
d	0,835	0,760	d'	6,159	3,793
e	3,874	1,712	e'	0,196	0,362
f	0,0	0,0	f'	7,386	4,730
g	0,0	0,0	g'	9,301	4,347
h	2,310	0,976	h'	0,0	0,0

Tab. 5: C1-Inhibitorkonzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

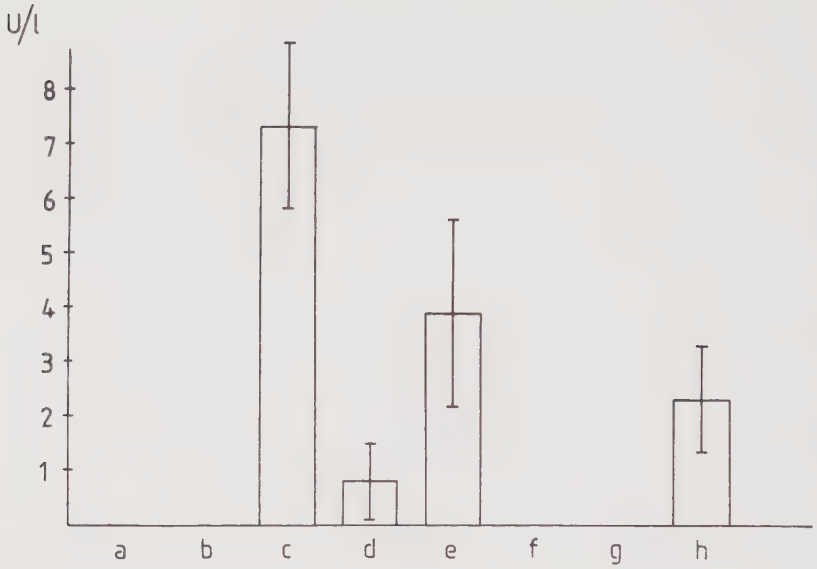

Abb. 6: C1-Inhibitorkonzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Beim Vergleich mit den Werten der Gruppe Karaus/Hoffmann (86) fällt vor allem auf, daß sie auch bei f' und g' meßbare Konzentrationen, bei h' jedoch keinen Gehalt an C1-Inhibitor gefunden haben. Dadurch ergaben sich hier signifikante Differenzen. Weiterhin zeigten sich bei c' und d' signifikant höhere Werte als bei c und d, wohingegen das Ergebnis bei e' signifikant kleiner ist als bei e.

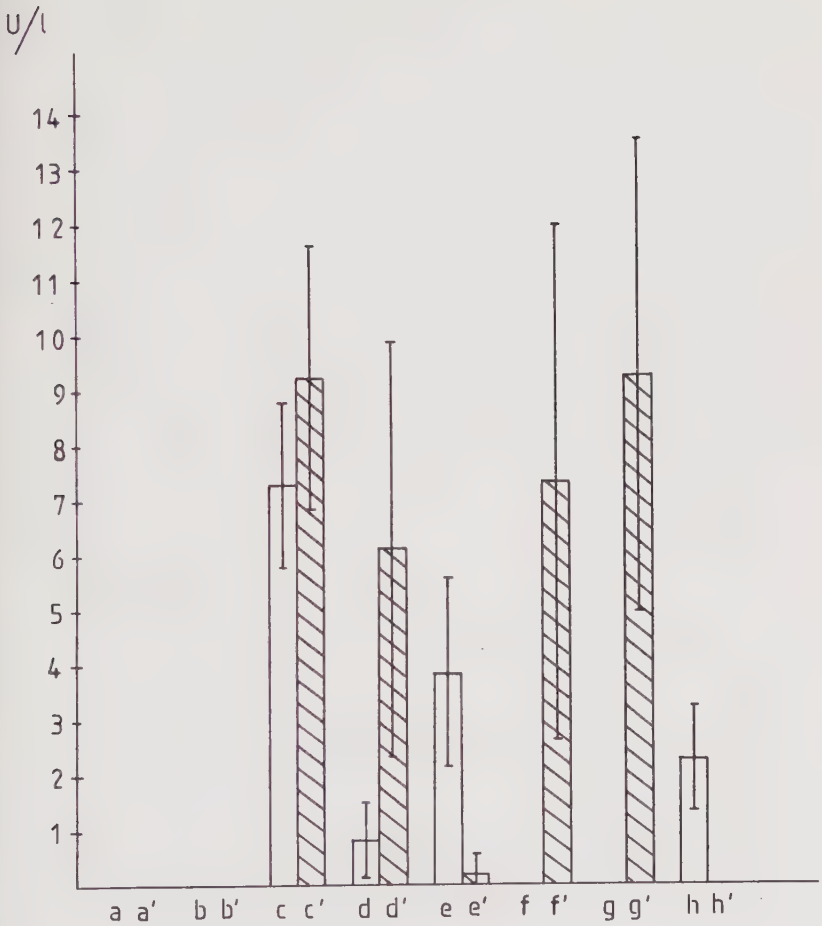

Abb. 7: Vergleich der C1-Inhibitorkonzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Die Präparate wurden weiterhin mit Hilfe der Laser-Nephelometrie untersucht. Dabei ergab sich die Schwierigkeit,

daß die gemessenen Voltzahlen oft zu klein waren, um mit Hilfe der Referenzkurve berechnet zu werden. Es wäre jedoch falsch gewesen, die Konzentrationen dann grundsätzlich mit Null anzugeben. Deshalb wurde für diejenigen Voltzahlen, die nahe an der noch auswertbaren Mindeststärke lagen, der tiefste Wert der Referenzkurve als Ergebnis genommen. Voltzahlen, die weit unter dieser Mindestgröße lagen, wurden dagegen mit Null bewertet. Aus diesen Gründen ergeben sich die öfters exakt gleichen Resultate.

Gerade noch meßbare Konzentrationen fanden sich bei a, c, e, g, h. Da sie aus den oben genannten Gründen alle die gleiche Höhe aufweisen, zeigen sich signifikante Differenzen nur gegenüber den mit Null bewerteten Präparaten b, d, f.

C1-Inhibitor (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	0,220	0,0	a'	0,220	0,0
b	0,0	0,0	b'	0,220	0,0
c	0,220	0,0	c'	0,220	0,0
d	0,0	0,0	d'	0,220	0,0
e	0,220	0,0	e'	0,220	0,0
f	0,0	0,0	f'	0,220	0,0
g	0,220	0,0	g'	0,220	0,0
h	0,220	0,0	h'	0,0	0,0

Tab. 6: C1-Inhibitorkonzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

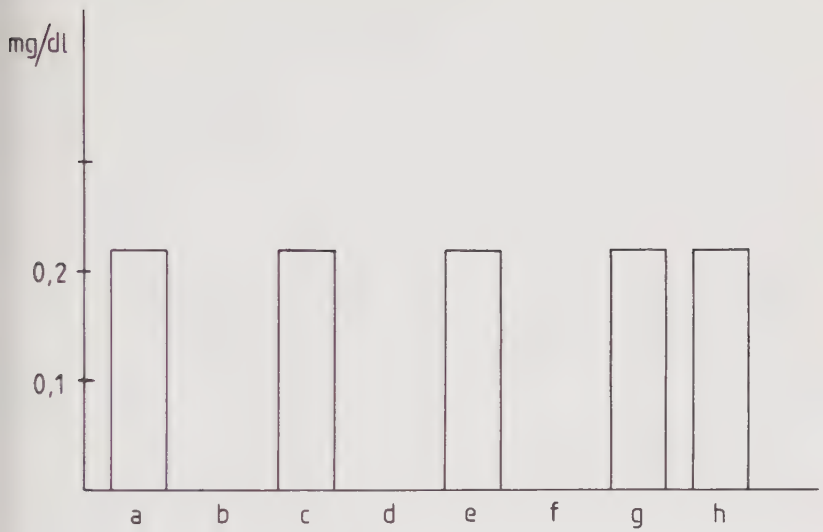

Abb. 8: C1-Inhibitorkonzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

Die Gruppe Karaus/Hoffmann (86) fand bei a', c', e', g' ebenfalls Konzentrationen in derselben Höhe wie sie von mir gemessen wurden. Im Gegensatz dazu konnten sie auch bei b', d' und f' geringe Mengen von C1-Inhibitor nachweisen, nicht jedoch bei h'. Dadurch ergaben sich bei b', d', f' signifikant höhere, bei h' signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu meinen Ergebnissen.

Ein direkter Vergleich zwischen den einerseits mittels chromogener Substrate und andererseits mit Hilfe der Laser-Nephelometrie ermittelten Ergebnisse ist aufgrund der unterschiedlichen Einheiten nicht möglich.

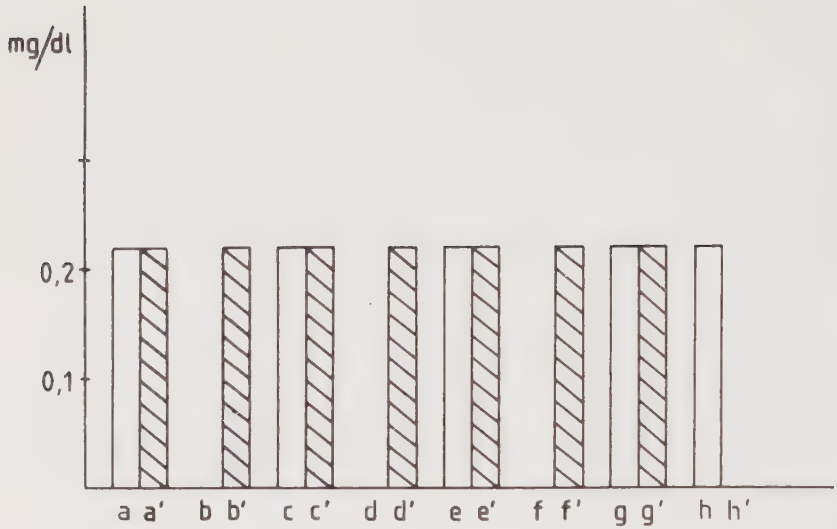

Abb. 9: Vergleich der C1-Inhibitorkonzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

2. Antiplasmin

Die Präparate wurden ausschließlich mittels chromogener Substrate auf ihren Gehalt an Antiplasmin untersucht. Die Angaben erfolgen in Prozent der Konzentration in einem Standard-Plasma-Präparat (siehe Material und Methoden).

In allen Präparaten konnten meßbare Konzentrationen von Antiplasmin gefunden werden. Der höchste Wert ergab sich bei b. Er ist signifikant größer als bei allen anderen Präparaten. Ebenfalls höhere Werte fanden sich bei a und

c, wobei derjenige von c größer als der bei b ist. Beide Werte unterscheiden sich signifikant von allen übrigen. Die niedrigste Konzentration zeigte sich bei h. Sie ist signifikant kleiner als die in den anderen Präparaten, mit Ausnahme von d. Die Werte von d, e, f, g, h liegen alle etwa in der gleichen Größenordnung, unterscheiden sich jedoch abgesehen von d untereinander signifikant.

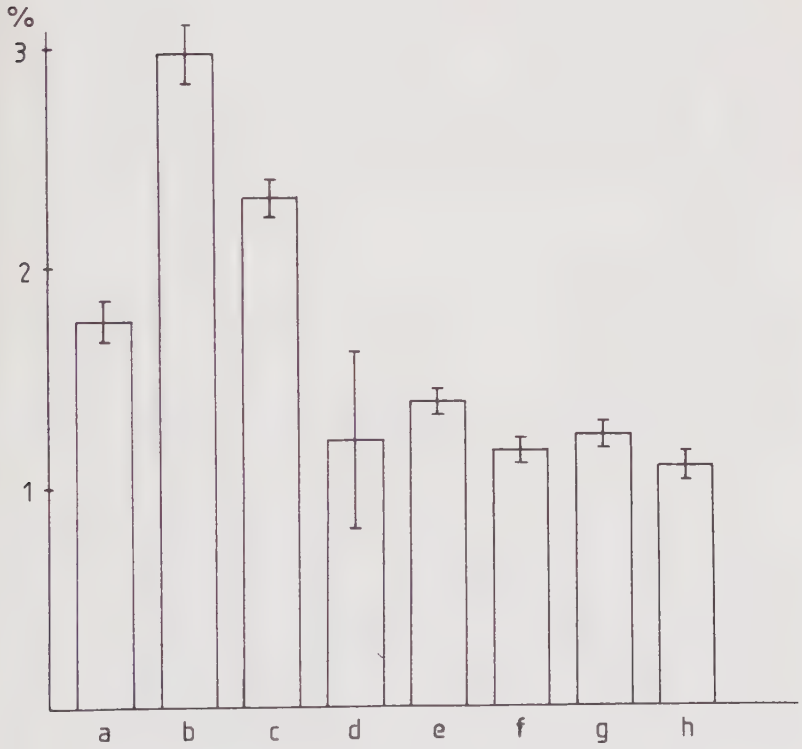

Abb. 10: Antiplasminkonzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Beim Vergleich mit den Werten der Gruppe Karaus/Hoffmann (86) fällt auf, daß sie bei a', e', g', h' signifikant höhere Konzentrationen messen konnten. Die größte Differenz besteht zwischen g und g'. Dagegen liegen ihre Werte bei b', c', d', f' signifikant niedriger als die von mir gemessenen. Besonders hoch ist der Unterschied zwischen b und b'. Die Standardabweichungen sind vor allem bei b', e' und f' relativ hoch.

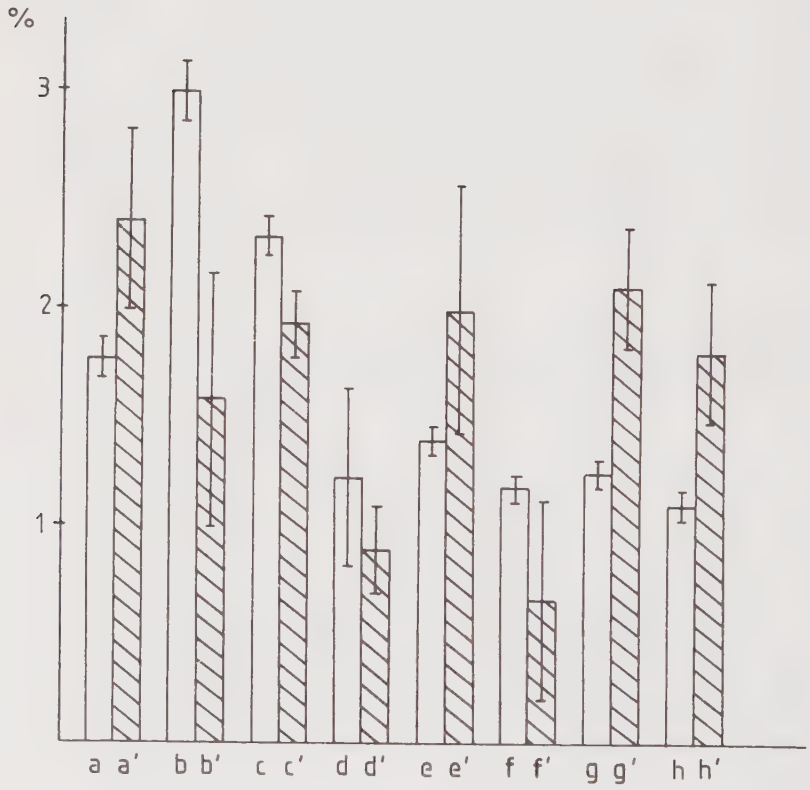

Abb. 11: Vergleich der Antiplasminkonzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Antiplasmin (%):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	1,764	0,083	a'	2,403	0,412
b	2,985	0,138	b'	1,572	0,586
c	2,382	0,083	c'	1,921	0,158
d	1,217	0,403	d'	0,892	0,190
e	1,391	0,058	e'	1,987	0,583
f	1,166	0,058	f'	0,668	0,449
g	1,237	0,062	g'	2,094	0,276
h	1,092	0,066	h'	1,794	0,313

Tab. 7: Antiplasminkonzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

3. Alpha-1-Antitrypsin

Die Bestimmung von Alpha-1-Antitrypsin wurde zuerst mittels chromogener Substrate vorgenommen. Dabei ergaben sich bei jedem Präparat meßbare Konzentrationen.

Die höchsten Werte fanden sich bei a, c, f, wobei die Konzentration bei c am höchsten und bei f am niedrigsten ist. Die drei Werte unterscheiden sich untereinander nicht signifikant, jedoch sind sie alle signifikant größer als die Konzentrationen in den restlichen Präparaten.
Das niedrigste Ergebnis fand sich bei b. Es ist signifikant kleiner als bei den übrigen Präparaten, mit Ausnahme von g und h. Die Werte von d, e, g und h liegen alle etwa im gleichen Größenbereich und unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die Standardabweichungen sind allgemein sehr groß, was wohl hauptsächlich auf die geringen Konzentrationen und die abgeänderte Form der Ver-

suchsdurchführung zurückzuführen ist (siehe Material und Methoden).

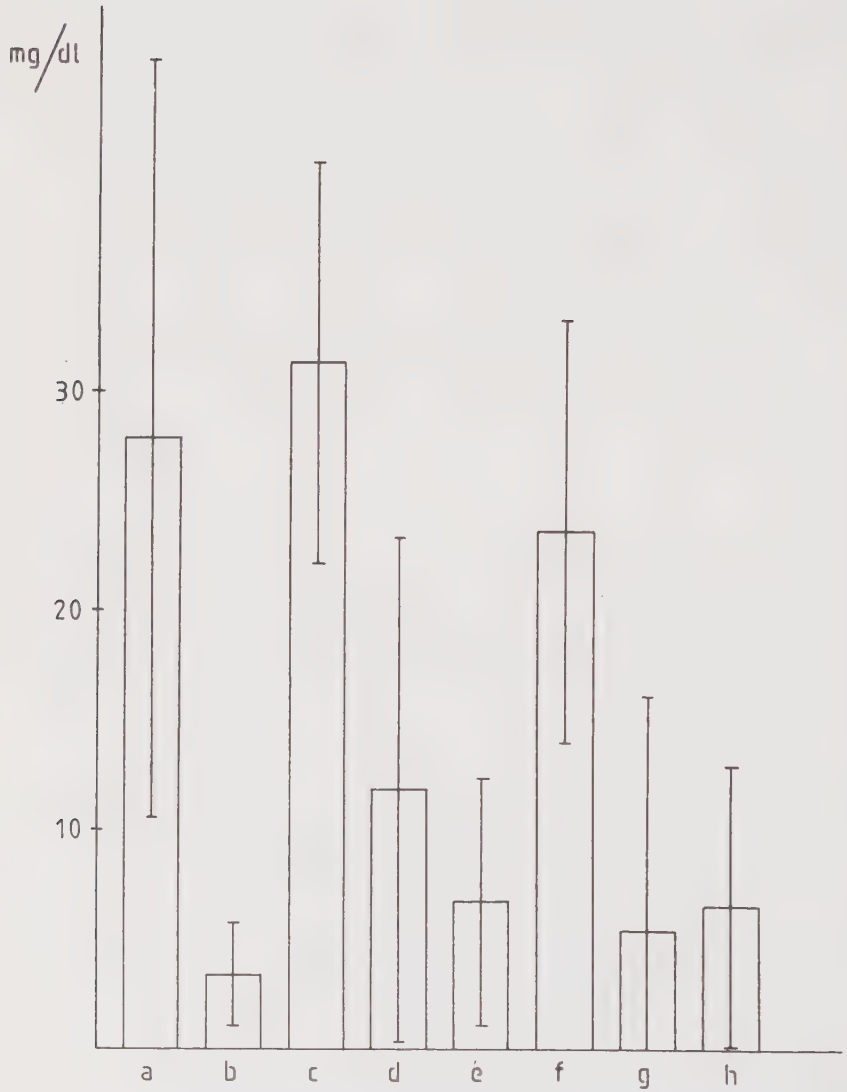

Abb. 12: Alpha-1-Antitrypsinkonzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Alpha-1-Antitrypsin (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	27,902	17,269	a'	77,626	98,557
b	3,399	2,346	b'	30,112	36,248
c	31,324	9,120	c'	110,972	70,345
d	11,936	11,419	d'	16,394	15,307
e	6,725	5,585	e'	53,806	28,304
f	23,604	9,618	f'	20,598	17,70
g	5,491	10,634	g'	42,877	19,032
h	6,556	6,379	h'	11,210	15,349

Tab. 8: Alpha-1-Antitrypsinkonzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Beim Vergleich mit den Werten von Karaus/Hoffmann (86) zeigen sich bei ihnen, mit Ausnahme bei Präparat f, zum Teil weit höhere Ergebnisse. Da sie jedoch gleichzeitig oft extrem große Standardabweichungen angeben, ist der Unterschied nur bei c', e', g' signifikant. Der Wert bei f' ist nicht signifikant kleiner als derjenige von f.

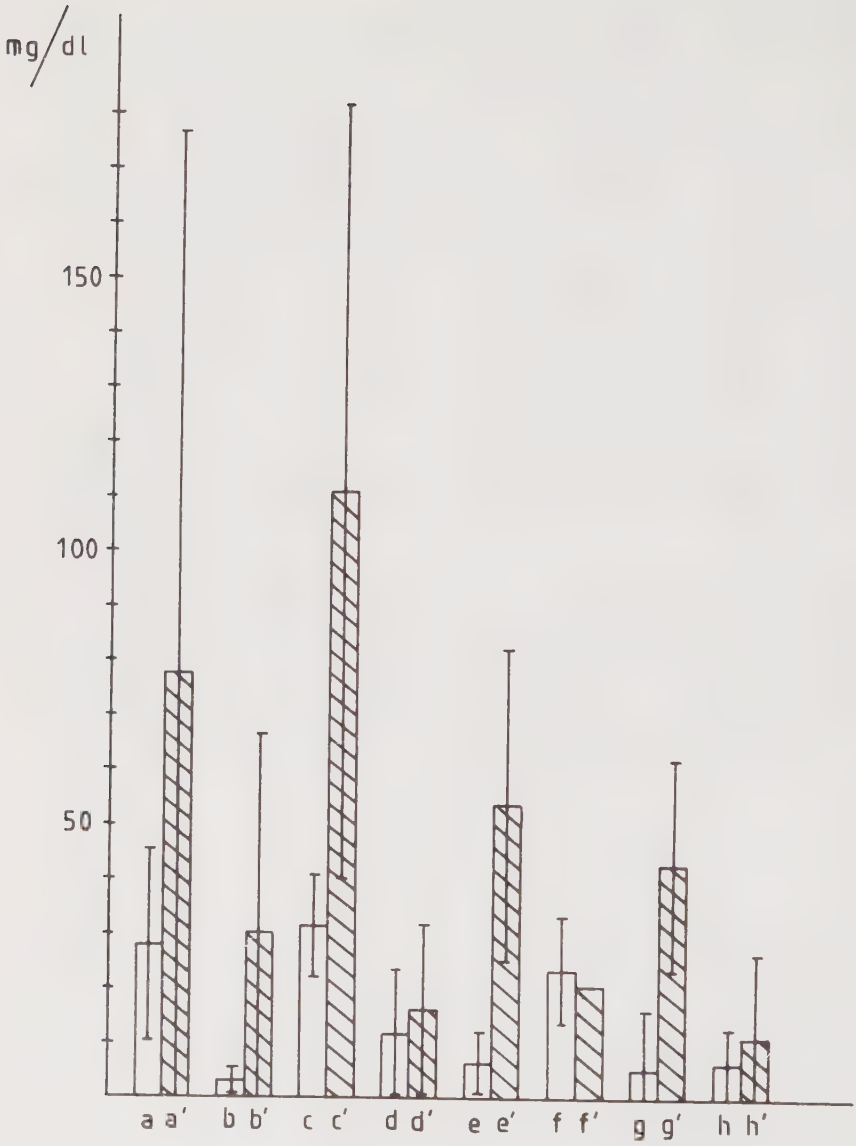

Abb. 13: Vergleich der Alpha-1-Antitrypsinkonzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Bei der Messung mit Hilfe der Laser-Nephelometrie konnten bei a und b meßbare Konzentrationen gefunden werden. Zum gleichen Ergebnis kamen Karaus/Hoffmann (86), wobei sie jedoch bei d' zu einem signifikant niedrigeren Wert als bei d gelangten.

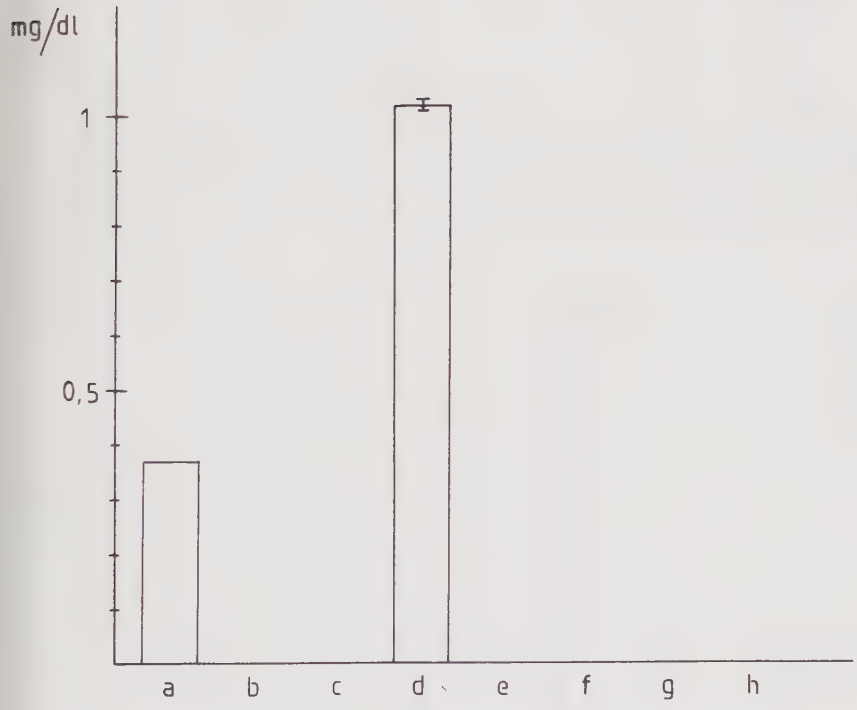

Abb. 14: Alpha-1-Antitrypsinkonzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

Alpha-1-Antitrypsin (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	0,370	0,0	a'	0,372	0,0
b	0,0	0,0	b'	0,0	0,0
c	0,0	0,0	c'	0,0	0,0
d	1,029	0,011	d'	0,372	0,0
e	0,0	0,0	e'	0,0	0,0
f	0,0	0,0	f'	0,0	0,0
g	0,0	0,0	g'	0,0	0,0
h	0,0	0,0	h'	0,0	0,0

Tab. 9: Alpha-1-Antitrypsinkonzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

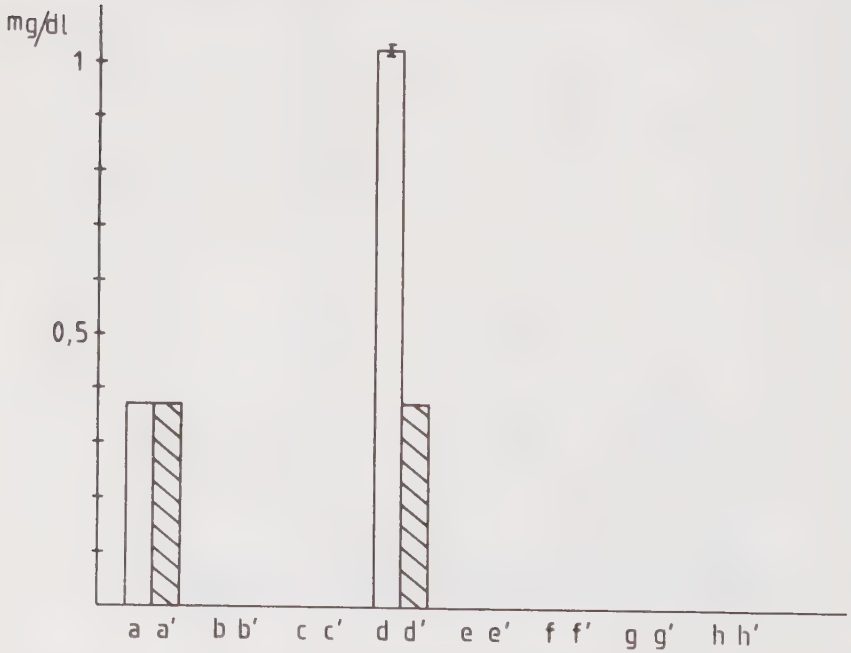

Abb. 15: Vergleich der Alpha-1-Antitrypsinkonzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

Beim Vergleich der beiden Untersuchungsmethoden zeigen sich bei der Laser-Nephelometrie signifikant niedrigere Werte als bei der Bestimmung mittels chromogener Substrate. Dieses an und für sich unlogische Ergebnis ist eventuell auf Veränderungen während der Liegedauer der Präparate zwischen den Untersuchungen zurückzuführen (siehe Methodenkritik).

4. Alpha-2-Makroglobulin

Die Präparate wurden zuerst mittels chromogener Substrate untersucht. Dabei konnten, mit Ausnahme von b, überall meßbare Konzentrationen von Alpha-2-Makroglobulin nachgewiesen werden.
Der höchste Wert ergab sich bei f. Er ist signifikant größer als alle anderen. Das niedrigste Ergebnis fand sich bei g. Es unterscheidet sich nicht signifikant von jenen bei c und h und ist signifikant kleiner als die restlichen Werte. Die Konzentration in Präparat h ist nur geringfügig höher (nicht signifikant) als bei g. Sie ist signifikant kleiner als bei a, e, f, unterscheidet sich jedoch nicht signifikant von den Werten bei c und d. Die Ergebnisse von a, c, d und e liegen alle etwa im gleichen Größenbereich und nur die von d und e unterscheiden sich signifikant, wobei der Wert von e höher liegt. Die Standardabweichungen sind relativ hoch, vor allem bei a, c, g, h.

Die Werte von Karaus/Hoffmann (86) liegen mit Ausnahme von f' und h' zum Teil weitaus höher als meine Ergebnisse. Außerdem haben sie auch bei b' meßbare Konzentrationen von Alpha-2-Makroglobulin gefunden. Da die von ihnen angegebenen Standardabweichungen jedoch sehr hoch sind, ergeben sich nur für die Präparate b', c', g' signifikant höhere Werte, für Präparat f' ein signifikant niedrigerer Wert als die von mir gefundenen.

Alpha-2-Makroglobulin (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	6,023	4,837	a'	9,052	6,723
b	0,0	0,0	b'	10,505	9,664
c	4,695	4,977	c'	16,386	8,384
d	3,913	2,627	d'	8,303	6,684
e	7,282	2,364	e'	9,937	5,482
f	12,250	4,968	f'	4,764	5,369
g	1,633	1,983	g'	30,967	10,076
h	1,871	2,434	h'	1,361	1,864

Tab. 10: Alpha-2-Makroglobulinkonzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

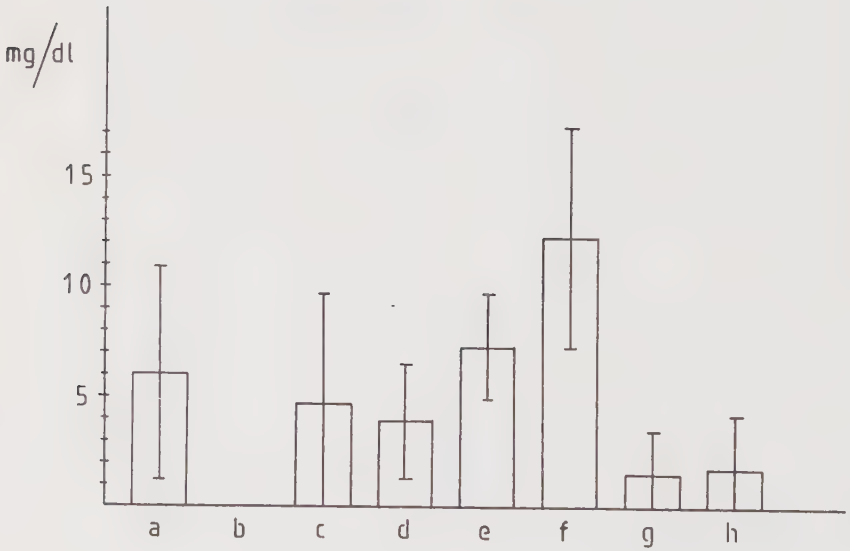

Abb. 16: Alpha-2-Makroglobulinkonzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

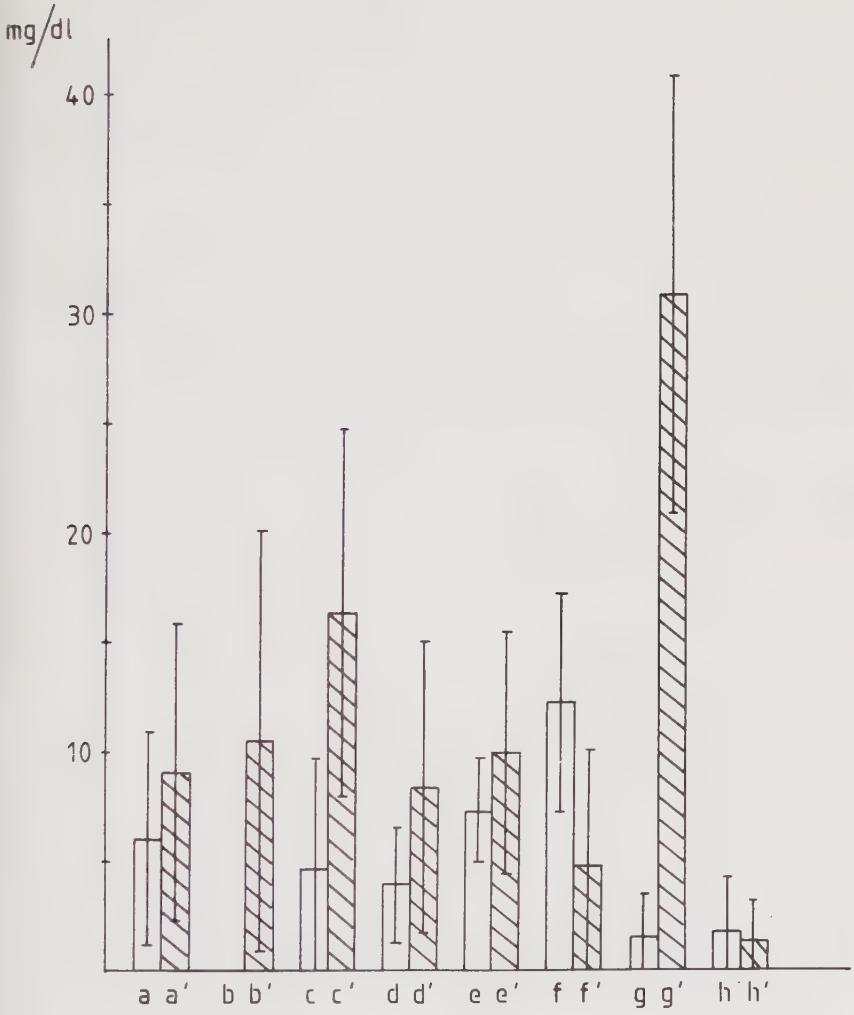

Abb. 17: Vergleich der Alpha-2-Makroglobulinkonzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels chromogener Substrate

Bei den Untersuchungen mit Hilfe der Laser-Nephelometrie wurden nur in den Präparaten b, d, f, g und h geringe Mengen von Alpha-2-Makroglobulin gefunden. Die höchste Konzentration enthält Präparat h. Die Ergebnisse bei d, f und b liegen, in der gleichen Reihenfolge, schon weitaus niedriger. Der geringste Wert konnte bei g gemessen werden. Alle Ergebnisse unterscheiden sich signifikant.

Karaus/Hoffmann (86) fanden bei ihren Untersuchungen bei d' höhere, bei b' und h' sehr viel niedrigere Werte im Vergleich zu den von mir gemessenen. Bei f' konnten sie keine meßbaren Konzentrationen nachweisen. Bei g' ergab sich der gleiche Wert wie bei g. Alle sonst angegebenen Differenzen sind von signifikanter Größe.

Alpha-2-Makroglobulin (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	0,0	0,0	a'	0,0	0,0
b	1,948	0,027	b'	0,241	0,035
c	0,0	0,0	c'	0,0	0,0
d	10,330	0,067	d'	15,019	0,280
e	0,0	0,0	e'	0,0	0,0
f	2,686	0,025	f'	0,0	0,0
g	0,290	0,0	g'	0,297	0,0
h	23,244	0,454	h'	12,891	0,321

Tab. 11: Alpha-2-Makroglobulinkonzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

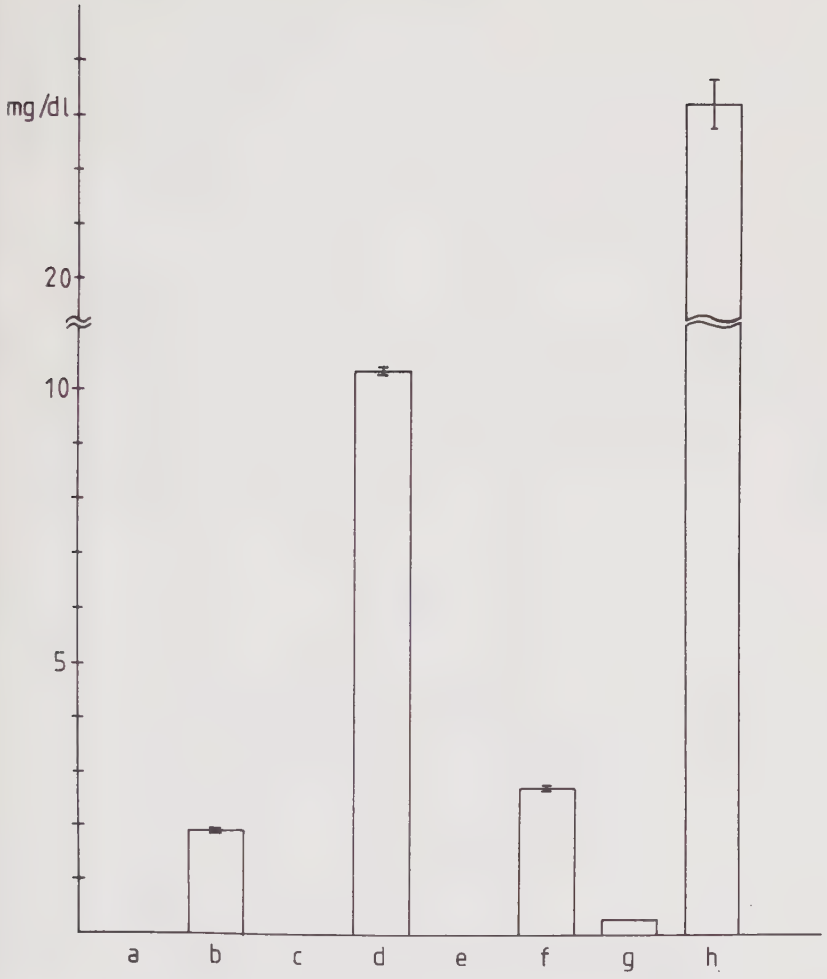

Abb. 18: Alpha-2-Makroglobulinkonzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

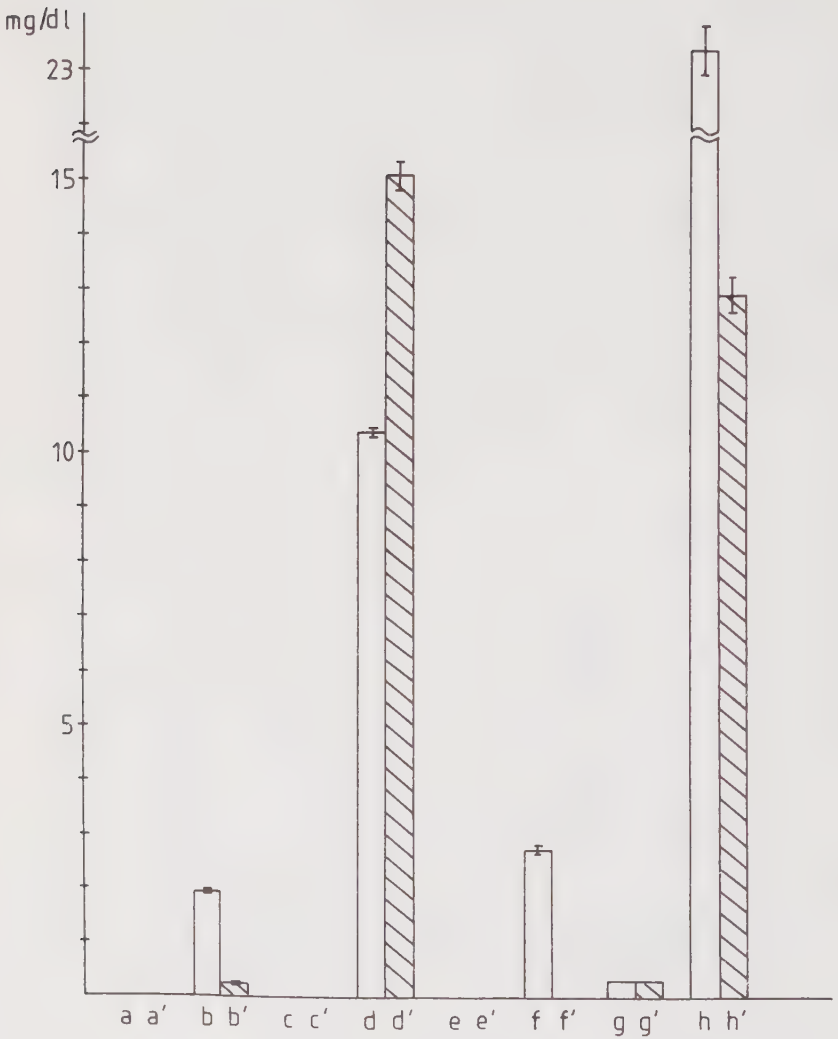

Abb. 19: Vergleich der Alpha-2-Makroglobulinkonzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

Beim Vergleich der beiden Untersuchungsmethoden zeigt sich, daß die Ergebnisse der Laser-Nephelometrie bei b, d und vor allem bei h signifikant größer, bei f signifikant kleiner, als die Ergebnisse der Untersuchung mit chromogenen Substraten sind. Die Werte von Präparat g unterscheiden sich nicht signifikant.

5. Fibronectin

Die Präparate wurden mittels Laser-Nephelometrie auf das Vorhandensein von Fibronectin untersucht. Es konnte jedoch bei keinem Präparat eine meßbare Konzentration dieses Stoffes gefunden werden. Dasselbe Ergebnis erzielten Karaus und Hoffmann (86).

6. IgG

Die Höhe des Gehalts an IgG wurde mittels Laser-Nephelometrie ermittelt. Der höchste Wert wurde bei a gemessen. Die Konzentration in f liegt nur geringfügig niedriger. Das geringste Ergebnis fand sich bei Präparat b. Die Werte der Präparate c, d, e, h liegen alle etwa im gleichen Bereich, derjenige von g etwas niedriger. Alle Werte unterscheiden sich signifikant voneinander.

Die Untersuchungen von Karaus/Hoffmann (86) ergaben bei b', c', f', g', h' niedrigere, bei a' sehr viel niedrigere Konzentrationen, als die von mir gemessenen. Die Werte von d' und e' sind gegenüber meinen erhöht. Die Differenzen sind jedoch nur bei den Präparaten a/a', b/b', e/e' und f/f' von signifikanter Größe.

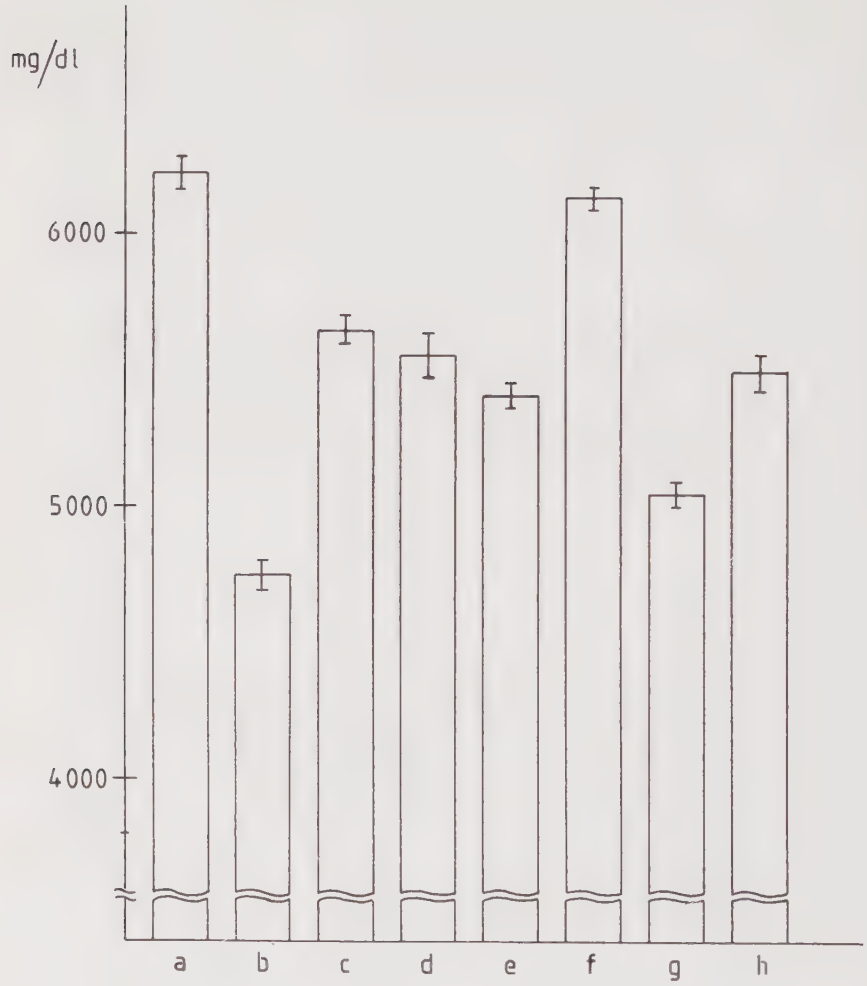

Abb. 20: IgG-Konzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

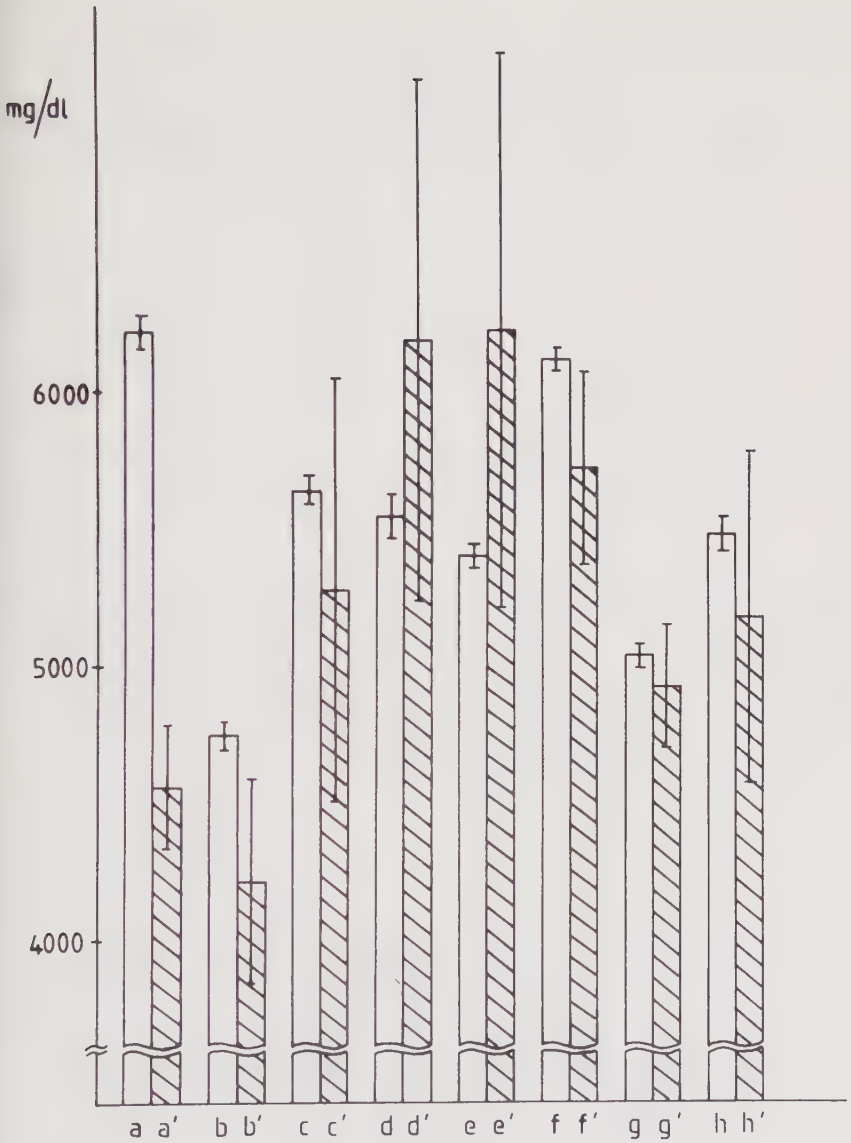

Abb. 21: Vergleich der IgG-Konzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

IgG (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	6221,90	66,741	a'	4560,175	225,397
b	4747,40	54,846	b'	4210,522	372,796
c	5643,90	57,367	c'	5276,222	771,841
d	5500,00	81,974	d'	6190,445	948,037
e	5400,30	46,612	e'	6231,050	1070,727
f	6122,30	41,751	f'	5722,875	356,910
g	5037,70	45,937	g'	4925,875	223,370
h	5482,20	67,818	h'	5175,30	603,614

Tab. 12: IgG-Konzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

Interessant war nun der Vergleich mit den jeweiligen Herstellerangaben über die Konzentration an IgG in den einzelnen Präparaten. Hierbei zeigte sich, daß die enthaltenen Mengen bei a, c, d, e, f, g und h signifikant größer, bei b signifikant geringer als angegeben waren. Die größten Abweichungen zeigten die Präparate a und f.

7. IgM

Die Konzentration von IgM in den Präparaten wurde mit Hilfe der Laser-Nephelometrie untersucht.
Es fanden sich geringe Mengen davon in den Präparaten b, d und f. Der höchste Wert wurde bei f gefunden, der geringste bei b. Das Ergebnis bei d liegt nur geringfügig höher als bei b. Alle Werte unterscheiden sich signifikant voneinander.

Die Gruppe Karaus/Hoffmann (86) fand keine meßbaren Mengen von IgM in den Präparaten b' und f'. Die Konzentration in Präparat d' ist geringfügig, jedoch signifikant, höher als in Präparat d. Dagegen sind die von ihnen gemessenen Werte in Präparat h' sehr viel, diejenigen in Präparat e' sogar extrem viel höher als alle übrigen Werte.

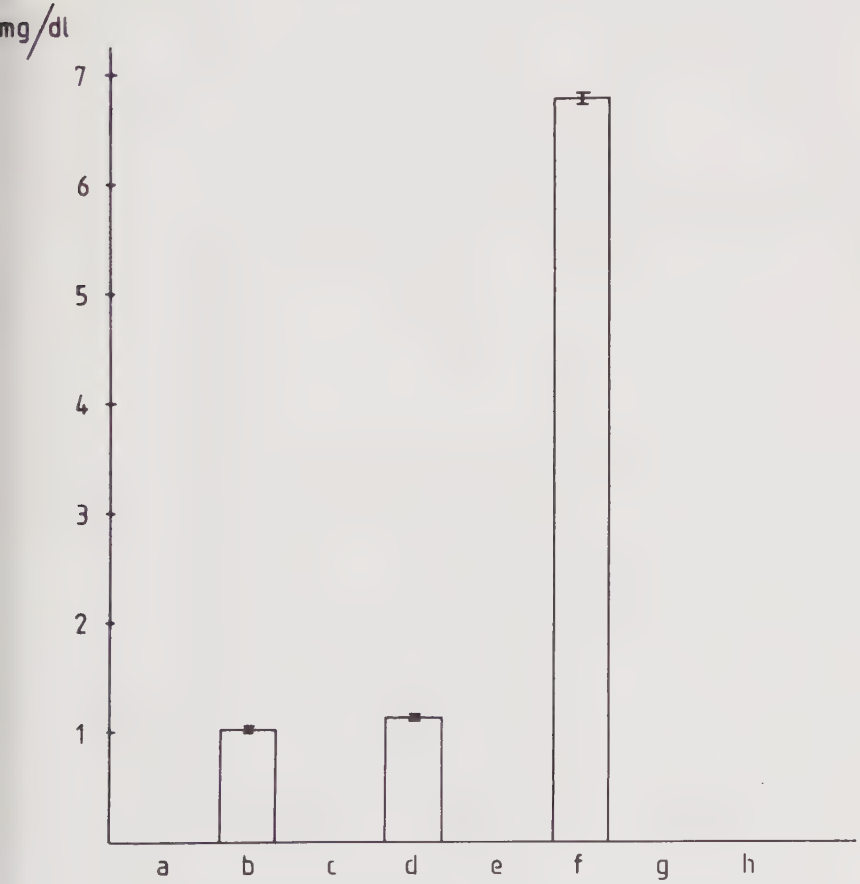

Abb. 22: IgM-Konzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

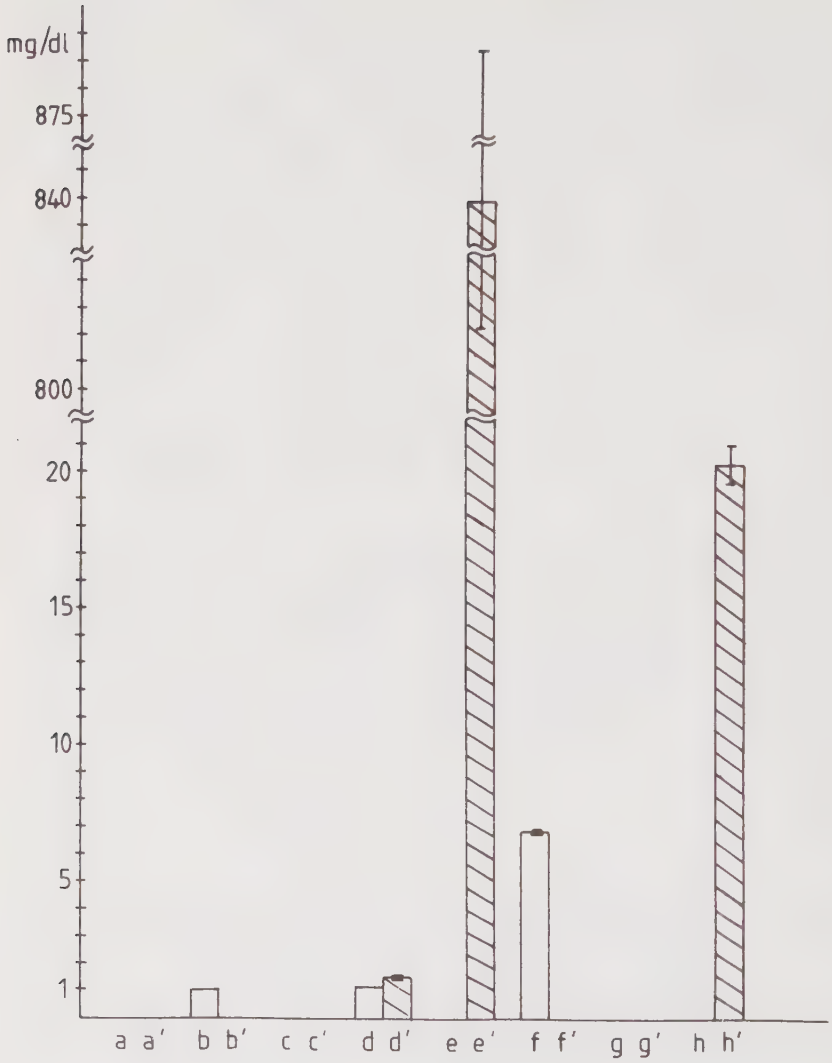

Abb. 23: Vergleich der IgM-Konzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

IgM (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	0,0	0,0	a'	0,0	0,0
b	1,033	0,027	b'	0,0	0,0
c	0,0	0,0	c'	0,0	0,0
d	1,139	0,016	d'	1,435	0,085
e	0,0	0,0	e'	839,783	37,533
f	6,833	0,057	f'	0,0	0,0
g	0,0	0,0	g'	20,219	0,697
h	0,0	0,0	h'	0,0	0,0

Tab. 13: IgM-Konzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

8. IgA

Die Präparate wurden mittels Laser-Nephelometrie auf ihren Gehalt an IgA überprüft. Bei b, d, e, f und g konnten meßbare Konzentrationen gefunden werden. Der höchste Wert ergab sich bei e, er ist signifikant größer als alle anderen. Etwas geringere Ergebnisse fanden sich bei b und d, die sich nicht untereinander, jedoch von den übrigen Werten signifikant unterscheiden. Die geringste Konzentration an IgA zeigte sich in Präparat f, eine etwas höhere in Präparat g. Beide Werte sind signifikant unterschiedlich im Vergleich zu allen anderen.

Die Ergebnisse von Karaus/Hoffmann (86) liegen, außer bei f', zum Teil sehr weit über meinen Werten. Die größte Differenz ergibt sich bei e', aber auch bei b' ist der Unterschied erheblich. Weiterhin fanden sich ebenfalls bei

h' hohe Konzentrationen von IgA. Der Gehalt in Präparat f' ist dagegen niedriger als der von mir gemessene.
Die Unterschiede zwischen ihren und meinen Werten sind jeweils signifikant.

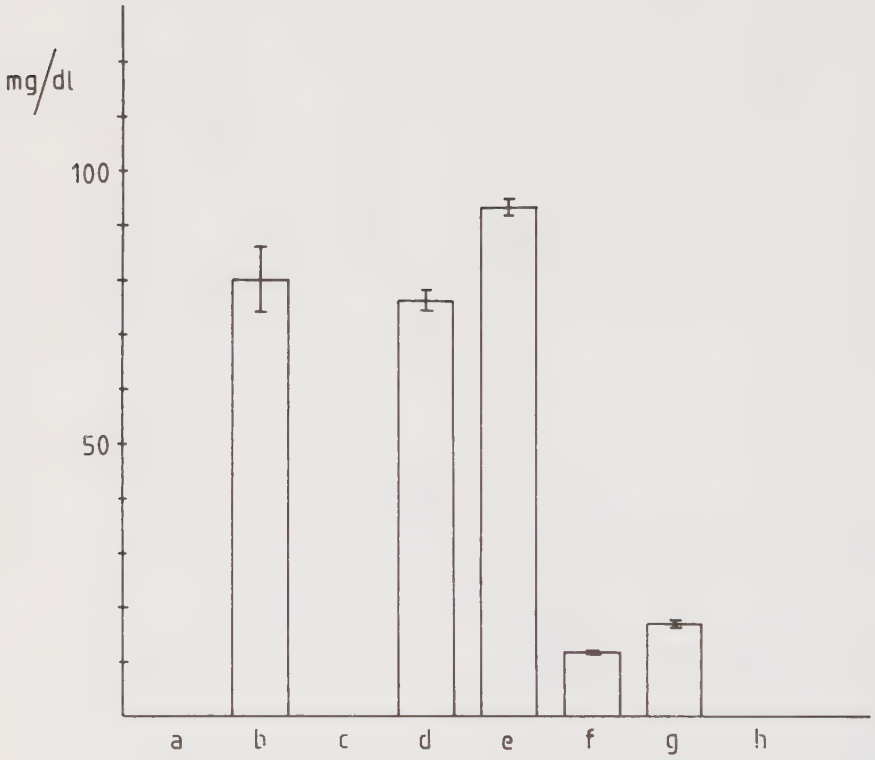

Abb. 24: IgA-Konzentration in den Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

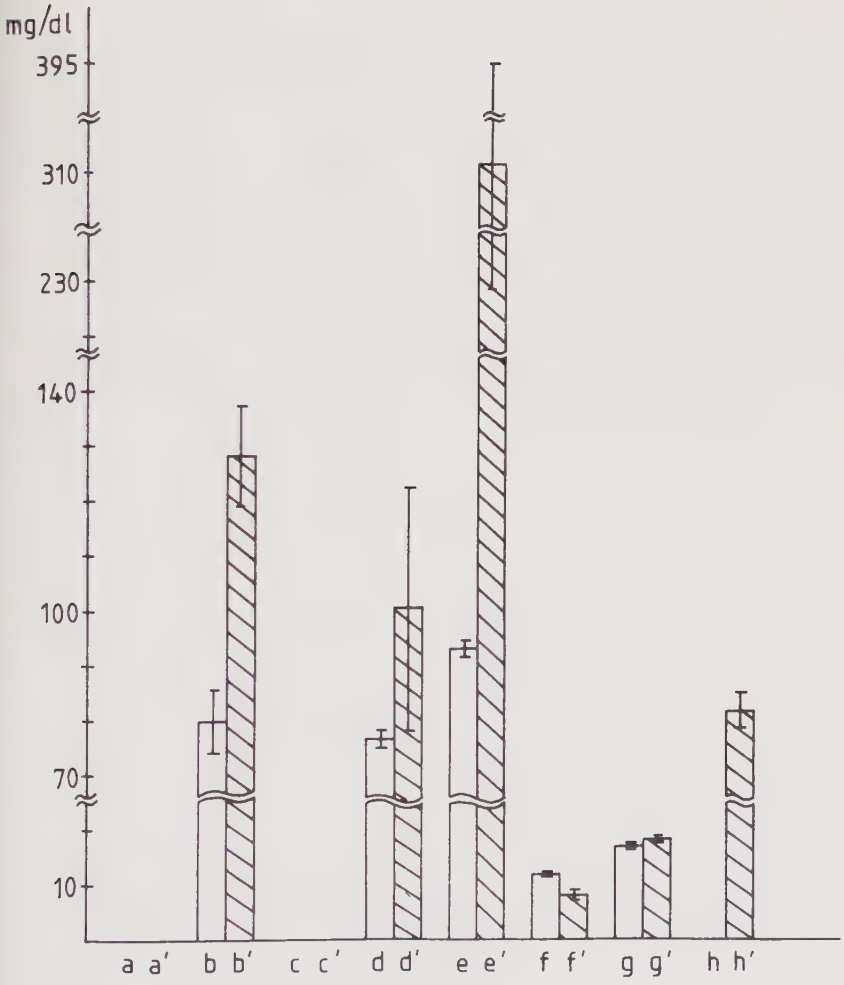

Abb. 25: Vergleich der IgA-Konzentrationen in den verschiedenen Chargen bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

IgA (mg/dl):

Präp.	Konz.	Standard-abweichung	Präp.	Konz.	Standard-abweichung
a	0,0	0,0	a'	0,0	0,0
b	79,878	5,964	b'	128,242	9,105
c	0,0	0,0	c'	0,0	0,0
d	76,597	1,712	d'	100,550	22,018
e	92,941	1,459	e'	311,960	83,082
f	11,931	0,190	f'	8,151	0,959
g	16,890	0,322	g'	18,096	0,536
h	0,0	0,0	h'	81,708	3,194

Tab. 14: IgA-Konzentration in den einzelnen Präparaten bei Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

E) DISKUSSION

1. C1-Inhibitor

Der C1-Inhibitor wirkt hemmend auf einige wichtige Funktionen des menschlichen Organismus. So behindert er direkt die Aktivierung des Komplementsystems durch Komplexbildung mit C1 (70, 128, 159). Über die Hemmung von Plasma-Kallikrein greift er indirekt in die Blutgerinnung, die Fibrinolyse und wiederum in die Komplementsystemaktivierung ein (128). Weiterhin hat er auch einen direkten dämpfenden Einfluß auf die Blutgerinnung über die Faktoren XI und XII (70, 123, 148). Schließlich hemmt er ebenfalls Plasmin und damit die Fibrinolyse (70, 128, 170).

Unter Berücksichtigung der Einsatzgebiete der Immunglobulinpräparate wären folgende Nachteile einer unkontrollierten C1-Inhibitorzufuhr zu bedenken. Die suppressive Wirkung auf das Komplementsystem hat eine Schwächung der körpereigenen Abwehr zur Folge, die durch die Gamma-Globulinsubstitution ja eigentlich gestärkt werden soll.
Zu beachten wäre hier eventuell auch, daß die Wirkung von C1-Inhibitor auf das Komplementsystem durch Heparin bis auf das 15fache gesteigert wird (159). Heparin wird aber oft in der postoperativen Phase zur Thromboseprophylaxe gegeben (45, 114).

Eine weitere Eigenschaft des C1-Inhibitors, die Hemmung der Blutgerinnung, ist deshalb zu beachten, da viele der für den Einsatz von Immunglobulinen interessanten Erkrankungen mit einer hämorrhagischen Diathese einhergehen, so zum Beispiel die chronisch lymphatische Leukämie, die idiopathische thrombozytopenische Purpura, septische Komplikationen und Patienten unter aggressiver Chemotherapie (23, 35). Eine weitere Verminderung der Blutgerinnung könnte hier eventuell zu gefährlichen Blutungen führen.

Ein letzter Punkt ist die Fibrinolysehemmung durch C1-Inhibitor. Es besteht die Gefahr einer verstärkten intravasalen Gerinnung und Thrombenbildung. Dieses Risiko ist besonders bei bettlägrigen und frisch operierten Patienten groß.

Es ist nun die Frage, inwieweit die in den Präparaten gefundenen Konzentrationen ausreichen, um diese Wirkungen im Organismus zu entfalten. Bei den Untersuchungen mittels chromogener Substrate wurden in den Präparaten c, d, e, h kleine Mengen an C1-Inhibitor gefunden. Die höchste Konzentration enthielt Präparat c mit 7,274 U/l. Die Gruppe Karaus/Hoffmann (86) fand bei der Untersuchung ihrer Charge auch in f' und g', dagegen nicht in h', C1-Inhibitor. Ihre Werte liegen in der Regel höher als meine, der höchste bei 9,301 U/l. Es zeigte sich, daß sowohl zwischen den einzelnen Präparaten als auch zwischen den einzelnen Chargen des gleichen Präparates signifikante Schwankungen in bezug auf ihren Gehalt an C1-Inhibitor vorkommen.

Die Auswertung der Ergebnisse der Laser-Nephelometrie muß mit einer gewissen Skepsis betrachtet werden. So lagen alle sowohl von mir als auch von Karaus/Hoffmann (86) gemessenen Werte unterhalb des durch die Referenzkurve dargestellten Meßbereiches. Die Werte mußten daher aus rechnerischen Gründen auf den untersten, noch auf der Kurve liegenden Wert auf- oder auf Null abgerundet werden (siehe auch Ergebnisse). Weiterhin muß aufgrund der relativ langen Lagerzeit der gelösten Präparate, bis die Benutzung eines Laser-Nephelometers möglich wurde, mit einer Veränderung der enthaltenen Stoffe gerechnet werden (siehe auch Methodenkritik).
Bei meinen Untersuchungen fand ich geringe Mengen an C1-Inhibitor in den Präparaten a, c, e, g, h, die Gruppe Karaus/Hoffmann (86) weiterhin noch in b' und d', dagegen nicht in h'. Alle Werte lagen in der gleichen Höhe von maximal

0,220 mg/dl. Auch hier ergaben sich zumindestens teilweise signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Chargen.

Um nun die Möglichkeit einer Störung durch C1-Inhibitor nach Infusion eines Immunglobulinpräparates abzuwägen, muß von der Gesamtmenge des im Körper enthaltenen C1-Inhibitors ausgegangen werden. Aus den Ergebnissen der bei den Tests ständig zur Kontrolle mituntersuchten Standard-Plasma-Präparate geht hervor, daß die normale Konzentration an C1-Inhibitor im Plasma bei ca. 110 U/l liegt. Das ergibt bei etwa 2,7 l Plasma/Person eine Gesamtmenge von ungefähr 300 U/Person. Geht man nun selbst von sehr hoch dosierten Immunglobulingaben aus, wie sie zum Beispiel bei Versuchen zur Therapie der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (bis zu 700 ml/Tag) angewandt wurden (137), so liegt die Menge des dabei mitapplizierten C1-Inhibitors nach meinen Werten bei maximal 5,09 U und nach denen von Karaus/Hoffmann (86) bei maximal 6,51 U. Diese Mengen dürften zu klein sein, um klinische Symptome auszulösen.

2. Antiplasmin

Die Hauptwirkung von Antiplasmin im Organismus beruht auf seiner Funktion als wichtigster Sofort-Inhibitor des Plasmins und damit der Fibrinolyse (43, 181, 182). Ein Überschuß an Antiplasmin kann das Gleichgewicht zwischen Gerinnung und Fibrinolyse stören und zu intravasalen Thrombenbildungen Anlaß geben.

Im Hinblick auf die Anwendungsgebiete der Immunglobulinpräparate sind hier vor allem bettlägrige Patienten nach größeren Operationen gefährdet. Die in der Regel bei ihnen durchgeführte prophylaktische Heparintherapie müßte erhöht werden, würden den Patienten gleichzeitig größere

Mengen Antiplasmin infundiert.

Ebenfalls ungünstig wäre die Zufuhr von Antiplasmin bei Patienten mit bakterieller Sepsis. Hierbei kommt es häufig zu ausgedehnten intravasalen Gerinnungen (90). Werden diese nicht schnell wieder durch Fibrinolyse aufgelöst, kann es durch Mikrothrombenablagerung zu irreversiblen Schockfolgen an den parenchymatösen Organen kommen (90).

Bei den Untersuchungen ergab sich, daß in jedem Präparat geringe Mengen von Antiplasmin enthalten waren. Es gab zwischen fast allen Präparaten signifikante Unterschiede, besonders fiel jedoch Präparat b auf, das mit 2,985 % eine beinahe doppelt so hohe Konzentration an Antiplasmin aufwies, als die meisten anderen. Auch die Gruppe Karaus/ Hoffmann (86) konnte bei allen Präparaten ihrer Charge Antiplasmin nachweisen. Alle Werte waren signifikant unterschiedlich gegenüber den meinen.
Zusammenfassend kann man wohl sagen, daß Antiplasmin ein regelmäßiger Bestandteil der Immunglobulinpräparationen ist mit einer durchschnittlichen Konzentration von 1,5-2 %, gemessen an einem Standard-Plasma. Bei einer normalen Plasmakonzentration von 5-7 mg/dl entspräche dies ca. 0,1-0,14 mg/dl. Lediglich die Präparate d/d' und f/f' liegen deutlich unter, die Präparate b, c und a' deutlich über diesem Wert.

Geht man von einer durchschnittlichen Gamma-Globulinsubstitution von etwa 400 ml aus, wie es zum Beispiel Duswald zur Vorbeugung postoperativer Komplikationen vorschlägt (37), so beträgt die Zufuhr von Antiplasmin selbst mit dem am höchsten konzentrierten Präparat b nur ca. 0,6-0,8 mg. Verglichen mit einer Gesamtkörperkonzentration von etwa 140-190 mg dürfte diese Menge keine Rolle spielen. Auch bei einer Langzeit- oder Dauertherapie, wie sie beispielsweise bei der Agammaglobulinämie nötig ist, kann es auf-

grund der Halbwertszeit des Antiplasmins von 2,6 Tagen nicht zu einer gefährlicheren Kumulation kommen.

3. Alpha-1-Antitrypsin

Alpha-1-Antitrypsin ist derjenige Proteinase Inhibitor mit der höchsten Konzentration im Blut. Es hemmt die Blutgerinnung über Thrombin, Faktor Xa, Faktor XIa, Hagemann-Faktor (34, 44, 53, 153) und die Fibrinolyse über Plasmin (72). Durch die Hemmung von Plasma-Kallikrein (72) hat es ebenfalls einen dämpfenden Einfluß auf die Blutgerinnung und Fibrinolyse. Zusätzlich werden noch einige weitere Enzyme durch Alpha-1-Antitrypsin in ihrer Aktivität gebremst.

In bezug auf die Einsatzgebiete der Immunglobulinpräparate könnte die Tatsache von Interesse sein, daß Alpha-1-Antitrypsin bei einigen entzündlichen Erkrankungen , so auch bei Sepsis, erhöht im Blut vorkommt. Bei vielen Krebserkrankungen finden sich ebenfalls erhöhte Plasmakonzentrationen (73).

Die Hauptwirkungen einer unkontrollierten Zufuhr von Alpha-1-Antitrypsin könnten je nach Ausprägung seiner Eigenschaften bzw. Beeinflussung durch andere Faktoren entweder in einer vermehrten Blutungsbereitschaft oder einer verstärkten intravasalen Gerinnung mit Emboliegefahr bestehen. Vor allem bei Patienten mit Sepsis, bei denen Blutgerinnung und Fibrinolyse in Form einer Verbrauchskoagulopathie extrem verstärkt ablaufen können (90) und Alpha-1-Antitrypsin im Blut sowieso schon erhöht vorhanden ist, sollte eine weitere Zugabe dieses Faktors möglichst vermieden werden.

Bei den Untersuchungen mittels chromogener Substrate ergab sich, daß in allen Präparaten Alpha-1-Antitrypsin, allerdings in sehr unterschiedlichen Konzentrationen, enthalten war. Besonders auffällig waren die Präparate f, a und c, das mit 31,324 mg/dl die höchste Konzentration aufwies. Weitaus am besten schnitt Präparat b mit einer Konzentration von nur 3,399 mg/dl ab. Die relativ hohen Standardabweichungen sind wohl hauptsächlich auf das komplizierte Berechnungsverfahren zurückzuführen (siehe auch Methodenkritik). Die Gruppe Karaus/Hoffmann (86) konnte ebenfalls bei allen Präparaten Alpha-1-Antitrypsin nachweisen, jedoch liegen ihre Werte zum Teil weitaus höher. Auch bei ihnen hatten die Präparate a' und c' den höchsten Gehalt, aber c' erreicht eine Konzentration von 110,957 mg/dl. Die Standardabweichungen sind hier jedoch auch sehr hoch. Den geringsten Wert fanden sie bei Präparat h', so daß dieses, wenn man beide Chargen zusammen sieht, insgesamt die besten Ergebnisse zeigt.

Vor Beurteilung der Ergebnisse der Laser-Nephelometrie müssen die gleichen Einschränkungen gemacht werden, wie sie schon bei der Besprechung des C1-Inhibitors angesprochen wurden.
Mit dieser Untersuchungsmethode konnten sowohl von mir als auch von Karaus/Hoffmann (86) nur in den Präparaten a/a' und d/d' Alpha-1-Antitrypsin nachgewiesen werden. Die Konzentrationen liegen mit minimal 0,370 mg/dl und maximal 1,029 mg/dl weit unter den Werten, die mit Hilfe chromogener Substrate gefunden wurden.

Zusammenfassend läßt sich wohl sagen, daß in allen Präparaten mit dem Vorkommen von Alpha-1-Antitrypsin gerechnet werden muß. Die große Streubreite zwischen den einzelnen Präparaten, vor allem aber die sehr hohen Schwankungen unter den verschiedenen Chargen, lassen eine genaue Abschätzung des Risikos jedoch nicht zu. Immerhin werden bei

einer durchschnittlichen Immunglobulinsubstitution von 400 ml bei einem Präparat wie c' zusätzlich 443,9 mg Alpha-1-Antitrypsin mitinfundiert, bei hochdosierter Immunglobulingabe, wie zum Beispiel bei der Behandlung der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura mit bis zu 700 ml/Tag an 5 Tagen aufeinander (137), sogar 776,82 mg/Tag. Angesichts der im gesamten Plasma pro Person enthaltenen Menge von ca. 7150 mg Alpha-1-Antitrypsin, kann eine Zugabe in dieser Größenordnung, vor allem bei den ja schon meist vorher bestehenden Störungen im Gerinnungssystem, durchaus zu Beeinträchtigungen des hämostatischen Gleichgewichts führen.

4. Alpha-2-Makroglobulin

Alpha-2-Makroglobulin inhibiert nahezu alle Proteinasen wie Trypsin, Chymotrypsin, Faktor Xa, Plasmin, Thrombin, Plasma-Kallikrein, Plasminogen Aktivator, Urokinase, Leukozyten-Elastase (8, 44, 67). Der Einfluß auf Blutgerinnung und Fibrinolyse wird jedoch als gering eingeschätzt. Wichtig scheint seine Funktion zu sein, die gebundenen Enzyme schnell der intrazellulären Verdauung zuzuführen.
Interessant für die Anwendung von Immunglobulinen mag die Tatsache sein, daß Alpha-2-Makroglobulin bei einigen Karzinomarten und bei Agammaglobulinämie erhöht, bei multiplem Myelom und Sepsis erniedrigt im Blut vorhanden ist (38, 67, 171).

Bei der Untersuchung mit chromogenen Substraten konnte außer bei Präparat b überall Alpha-2-Makroglobulin nachgewiesen werden. Die höchste Konzentration ergab sich in Präparat f mit 12,250 mg/dl. Vergleicht man meine Werte mit den Ergebnissen von Karaus/Hoffmann (86), so liegen

jene mit einer Spitzenkonzentration von 30,967 mg/dl bei Präparat g' meist weitaus höher. Faßt man beide Chargen zusammen, so ergeben sich für Präparat h/h' die niedrigsten Werte.

Für die Beurteilung der Ergebnisse der Laser-Nephelometrie gelten die auch schon früher gemachten Einschränkungen. Auffallend sind hier vor allem die in beiden Chargen gefundenen hohen Werte bei Präparat d/d' und dem zuvor eine so niedrige Konzentration aufweisenden Präparat h/h'. Dies kann darauf hinweisen, daß ein Teil des in den Präparaten enthaltenen Alpha-2-Makroglobulins in einer inaktiven Form vorliegt und daher nicht mit den chromogenen Substraten erfaßt wurde.

Von klinischer Relevanz dürfte das in den Immunglobulinpräparaten auftretende Alpha-2-Makroglobulin wohl nicht sein. Zum einen wegen seiner geringen physiologischen Wirkung; zum anderen werden dem Organismus bei einer durchschnittlichen Gabe von 400 ml Immunglobulin maximal 123,86 mg bei Präparat g' zugeführt, bei den meisten Präparaten jedoch deutlich weniger. Angesichts einer Gesamtmenge von ca. 6875 mg/Person dürfte diese Zufuhr tolerierbar sein.
Im Hinblick auf die zum Teil sehr großen Unterschiede zwischen den beiden Chargen kann jedoch keine konkrete Aussage darüber gemacht werden, mit welchen Alpha-2-Makroglobulinkonzentrationen man bei den einzelnen Präparaten rechnen muß.

5. Fibronectin

Da weder von mir, noch von Karaus/Hoffmann (86) Fibronectin in den Präparaten gefunden werden konnte, muß davon ausge-

gangen werden, daß es kein regelmäßiger Bestandteil der Immunglobulinpräparationen ist, und sich somit hieraus auch keine weiteren Nachteile bei deren Anwendung ergeben.

6. IgG

IgG ist der therapeutisch wirksame Teil der untersuchten Präparate. Es ist in der Lage, Komplement zu aktivieren und sich an Rezeptoren auf phagozytierenden Zellen zu binden (110). Durch verschiedene Herstellungsverfahren soll eine hohe IgG-Konzentration erreicht, und durch Veränderung der Molekülstruktur unerwünschte Nebenwirkungen bei der intravenösen Zufuhr ausgeschaltet werden (6, 93, 154, 155).
Es war nun interessant zu untersuchen, inwieweit die von den Herstellern angegebenen Konzentrationen erreicht werden.

Mit Hilfe der Laser-Nephelometrie konnten bei allen Präparaten signifikant unterschiedliche Konzentrationen gemessen werden. Die Präparate a und f überschritten die angegebenen Mengen um über 20 %. Nur Präparat b hatte einen niedrigeren IgG-Gehalt, als vom Hersteller versprochen. Karaus/Hoffmann (86) fanden meist niedrigere Werte, außer bei d' und e', deren Konzentrationen ebenfalls 6000 mg/dl überschritten. Auffällig ist die große Diskrepanz zwischen a und a', welches nicht einmal die angegebenen Mindestwerte erreicht. Bestätigt wurde hingegen das schlechte Abschneiden von Präparat b/b'.
Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die meisten Präparate die angegebenen Mindestkonzentrationen erreichen, bzw. häufig weit überschreiten. In der Regel sind die Abweichungen zwischen den einzelnen Chargen nicht so groß,

daß sich daraus Ungenauigkeiten bei der Therapie ergeben konnten. Eine Ausnahme bildet hier Präparat a a', bei dem immerhin eine Differenz von 1661,73 mg dl zwischen beiden Chargen vorliegt. Nur Präparat b b' erreichte nicht den vom Hersteller angegebenen Mindestgehalt an IgG und ist somit als ungenügend zu bewerten.

7. IgM

IgM ist das größte Immunglobulin. Es wird bei einer Abwehrreaktion als erstes gebildet (156, 174), ist in der Lage, Komplement zu aktivieren und hat agglutinierende Eigenschaften (110). Hervorzuheben ist seine hohe Effektivität bei der Lyse von Bakterien (110, 156, 174). Bei der Herstellung der Immunglobulinpräparate wird es in der Regel zerstört und sollte somit nur noch in Spuren nachweisbar sein.

Die Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie scheinen dies auch weitgehend zu bestätigen. So zeigten nur die Präparate b und d sehr geringe, Präparat f mit 6,833 mg/dl zwar deutlich höhere, aber im Vergleich zu einer Blutkonzentration von maximal 200 mg/dl immer noch sehr niedrige IgM-Werte.
Überraschende Ergebnisse ergaben sich dagegen bei Karaus/Hoffmann (86). Zwar fanden sie auch bei den meisten Präparaten kein oder sehr wenig IgM. Selbst Präparat h', dessen IgM-Konzentration mit 20,219 mg/dl schon weit über meinen Ergebnissen liegt, ist nicht allzu auffällig. Interessant ist jedoch die Menge von 839,783 mg/dl IgM, die in Präparat e' gefunden wurde. Unter der Voraussetzung, daß hier kein Meßfehler vorliegt, muß bei einer solch hohen Abweichung von der Norm von einem Fehler bei der Herstellung speziell dieser Charge ausgegangen werden, da ich bei der

Untersuchung der anderen Charge überhaupt keine IgM-Konzentration feststellen konnte. Auch wenn die Gabe von Präparat e' klinisch wahrscheinlich keine negativen Folgen hätte, da die IgM-Konzentration im Blut in den Fällen, in denen Immunglobuline gegeben werden, ja meist auch erniedrigt ist, so ist doch ein Präparat, das solche Abweichungen von den Angaben des Herstellers zeigt, nicht zu empfehlen.

8. IgA

IgA kommt einerseits als sekretorisches IgA in den meisten externen Körpersekreten vor. Seine Bedeutung liegt im Schutz der Oberflächen, indem es die Adhäsion von Mikroorganismen erschwert (131). Die physiologische Bedeutung von Serum-IgA ist dagegen noch unklar. Es soll zur Virusneutralisation und Komplementaktivierung über den alternativen Weg in der Lage sein (166, 174).
Eine große Rolle spielt es in der Transfusionsmedizin, da vor allem Patienten mit selektivem IgA-Mangel, aber auch Personen mit normalen IgA-Werten über anti-IgA-Antikörper verfügen können (63, 100, 175, 176). Der Immunisierungsweg ist dabei noch nicht geklärt. Diese Antikörper können nach Infusionen, die IgA enthalten, zu anaphylaktischen Schockreaktionen führen (55, 100, 175).
Daher wird für die Immunglobulinpräparate eine möglichst geringe Konzentration an IgA gefordert, wie sie von den meisten Herstellern für ihre Produkte auch angegeben wird.

Die Ergebnisse der Laser-Nephelometrie bestätigen dies für die Produkte a, c und h, die gar kein IgA, und die Präparate f und g, die mit maximal 16,89 mg/dl immer noch relativ geringe Konzentrationen aufweisen. Anders dagegen die Präparate b, d und e. Die hier gefundenen Konzentrationen,

bei Präparat e immerhin 92,941 mg/dl, könnten wahrscheinlich in der Lage sein, bei entsprechend sensibilisierten Personen klinische Reaktionen auszulösen.
Der Vergleich mit den Werten von Karaus/Hoffmann (86) bestätigt die guten Ergebnisse bei den Präparaten a/a', c/c', f/f' und g/g'. Lediglich Präparat h' zeigt signifikant schlechtere Werte. Auch in dieser Charge weisen die Präparate b' und d' sogar noch höhere Werte als bei meinen Untersuchungen auf. Auffallend ist jedoch hauptsächlich wieder das Präparat e', das mit 311,96 mg/dl eine erstaunlich hohe IgA-Konzentration aufweist. Bei einer so großen Diskrepanz zwischen Herstellerangaben und tatsächlichem Inhalt muß sich wieder die Frage nach einem Fehler in der Produktion stellen.

Es wäre falsch, alle Produkte, die IgA enthalten, grundsätzlich abzulehnen, da zum einen nur ein geringer Teil der Patienten anti-IgA-Antikörper besitzt, zum anderen selbst diese Patienten auf vorsichtige IgA-Gaben nicht immer mit anaphylaktischen Nebenreaktionen reagieren (55). Allerdings ist es ratsam, besonders wenn der Verdacht auf vorhandene anti-IgA-Antikörper besteht, bei ansonsten gleich gut geeigneten Präparaten, auf dasjenige mit der geringeren IgA-Konzentration auszuweichen. "Ausrutscher", wie sie Präparat e' zeigt, lassen jedoch das Risiko von Nebenwirkungen unverhältnismäßig hoch werden und dürften daher nicht vorkommen.

Eine abschließende Wertung abzugeben ist nicht ganz einfach. Es hat sich gezeigt, daß zwischen den meisten Präparaten signifikante Unterschiede in bezug auf die enthaltenen Stoffe bestehen. Weitaus wichtiger erscheint mir die Erkenntnis, daß die Differenzen zwischen den verschiedenen Chargen ein- und desselben Präparates meist derart groß sind, daß sich prognostische Aussagen über durchschnitt-

lich zu erwartende Konzentrationen in weiteren Chargen kaum machen lassen.
Für die alle auf die eine oder andere Weise in das hämostatische Gleichgewicht eingreifenden Faktoren C1-Inhibitor, Antiplasmin, Alpha-1-Antitrypsin, Alpha-2-Makroglobulin läßt sich vielleicht folgendes sagen: jeder einzelne Faktor dürfte für sich allein in den vorhandenen Konzentrationen zu keinen Nebenwirkungen führen. Bei einem synergistischen Zusammenwirken aller Faktoren ist jedoch, vor allem bei vorgeschädigten Patienten, eine Beeinträchtigung mit klinisch sichbaren Auswirkungen durchaus möglich. Wollte man in bezug auf diese Faktoren ein "bestes Präparat" wählen, so wäre hier wohl Präparat h/h' zu nennen. Ein eindeutig "schlechtestes Präparat" gibt es dagegen nicht.

Bei der Beurteilung der in den Präparaten enthaltenen Konzentrationen an Immunglobulinen gilt, was die Unterschiede zwischen den einzelnen Präparaten und den beiden Chargen angeht, das oben Gesagte. Im Hinblick auf den Gehalt an IgG konnten die Angaben der Hersteller weitgehend bestätigt werden. Bei IgM und IgA hingegen zeigten nur die Präparate a/a', c/c', f/f' und g/g' gute bis sehr gute Werte. Als absolut "schlechtestes Präparat" erwies sich e'. Die hier gemessenen Werte fallen derart aus dem Rahmen, daß weitere Untersuchungen empfehlenswert wären.

F) ZUSAMMENFASSUNG

Acht verschiedene Immunglobulinpräparationen wurden mittels chromogener Substrate und der Laser-Nephelometrie auf ihren Gehalt an den gerinnungsaktiven Stoffen C1-Inhibitor, Alpha-1-Antitrypsin, Alpha-2-Makroglobulin und Fibronectin untersucht. Weiterhin sollten die in ihnen enthaltenen Konzentrationen an IgG, IgM und IgA ermittelt werden. Die bei den einzelnen Präparaten erzielten Ergebnisse wurden untereinander verglichen. Des weiteren wurden sie den Werten, die eine Untersuchergruppe (86) bei einer anderen Charge der gleichen Präparate gefunden hat, gegenübergestellt.

Die Untersuchung auf C1-Inhibitor mit Hilfe chromogener Substrate ergab meßbare Konzentrationen in vier Präparaten, die alle signifikante Unterschiede zueinander aufweisen. Karaus/Hoffmann (86) fanden C1-Inhibitor zum Teil auch noch in anderen Präparaten. Ihre Werte liegen meist höher und unterscheiden sich alle signifikant von den von mir gefundenen. Die Überprüfung mittels Laser-Nephelometrie zeigte sowohl bei meinen Untersuchungen als auch in der Vergleichsgruppe in fast allen Präparaten minimale Konzentrationen von C1-Inhibitor, die jedoch zu gering waren, um bestimmt werden zu können. Die Aussagekraft dieser Werte ist gering. Aufgrund der Ergebnisse läßt sich vermuten, daß selbst bei sehr hoch dosierter Immunglobulingabe eine Störung durch deren Gehalt an C1-Inhibitor nicht zu erwarten ist.

Die Suche nach Antiplasmin wurde ausschließlich mit chromogenen Substraten durchgeführt. In allen Präparaten konnten meßbare Konzentrationen dieses Stoffes gefunden werden. Die Werte liegen alle etwa in der gleichen Größenordnung, unterscheiden sich aber meist signifikant voneinander. Ein ähnliches Ergebnis können auch Karaus/Hoffmann (86) vor-

weisen, obwohl die beiden Chargen bei allen Präparaten signifikante Differenzen zeigen. Wegen der geringen Konzentrationen von Antiplasmin in den Präparaten dürften durch diesen Stoff keine störenden Nebenwirkungen bei der Immunglobulinsubstitution zu erwarten sein.

Alpha-1-Antitrypsin wurde einerseits mittels chromogener Substrate untersucht. In allen Präparaten konnte es in zum Teil sehr unterschiedlichen Mengen gefunden werden. Im Vergleich zu den von mir gefundenen Werten liegen diejenigen von Karaus/Hoffmann (86) meist weitaus höher. Die Differenz ist jedoch nur bei drei Präparaten signifikant. Die Untersuchung mit Hilfe der Laser-Nephelometrie erbrachte sowohl bei meinen Versuchen als auch bei der Vergleichsgruppe nur bei zwei Präparaten minimale Werte. Die Aussagekraft dieser Ergebnisse dürfte aufgrund der schon früher angebrachten Bedenken nicht sehr hoch sein. Angesichts der großen Schwankungen zwischen den einzelnen Präparaten, vor allem aber zwischen den beiden Chargen, ist eine generelle Aussage über ein Risiko durch den Alpha-1-Antitrypsingehalt in den Präparaten nicht möglich. Geht man jedoch von einer maximalen Dosierung der Immunglobulinpräparate aus, so wäre bei manchen der untersuchten Präparate eine Nebenwirkung nicht auszuschließen.

Alpha-2-Makroglobulin wurde zuerst mit Hilfe chromogener Substrate untersucht. In fast allen Präparaten ließ es sich in unterschiedlichen Mengen nachweisen. Die Ergebnisse von Karaus/Hoffmann (86) liegen deutlich höher. Die Differenz ist aber nur bei vier Präparaten signifikant. Bei der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie konnte nur in fünf Präparaten Alpha-2-Makroglobulin gefunden werden. Interessant sind besonders die, im Vergleich zu obigen Ergebnissen, großen Konzentrationen in den Präparaten d/d' und h/h'. Dies deutet auf einen hohen Prozentsatz an inaktivem Alpha-2-Makroglobulin hin.

Eine Nebenwirkung infolge ihres Gehalts an Alpha-2-Makroglobulin dürfte für die Immunglobulinpräparate nicht zu erwarten sein, da die gefundenen Mengen zu gering sind.

Der Fibronectingehalt in den Präparaten wurde ausschließlich mit Hilfe der Laser-Nephelometrie untersucht. Es konnten in keiner der beiden Chargen meßbare Mengen dieser Substanz nachgewiesen werden. Man kann also davon ausgehen, daß Fibronectin kein regelmäßiger Bestandteil der Immunglobulinpräparate ist und folglich auch keine Nebenwirkungen zu erwarten sind.

Um die Präparate auf ihren Gehalt an IgG, IgM und IgA zu überprüfen, wurde die Laser-Nephelometrie zu Hilfe genommen. Die Ergebnisse konnten mit den Herstellerangaben verglichen werden.

Alle Präparate außer b wiesen den deklarierten Mindestgehalt an IgG auf, manche überschritten ihn um mehr als 20 %. Die Unterschiede zwischen den gefundenen Konzentrationen sind alle signifikant. Beim Vergleich mit den Werten von Karaus/Hoffmann (86) zeigte sich wiederum, daß die Ergebnisse der einzelnen Chargen deutlich voneinander abweichen können. Die Differenzen sind jedoch nur bei vier Präparaten signifikant.

IgM konnte in drei Präparaten in geringen Mengen nachgewiesen werden. Bei Karaus/Hoffmann (86) fiel dagegen ein Präparat durch einen derart hohen IgM-Anteil auf, daß an die Möglichkeit eines Produktionsfehlers gedacht werden muß. Nebenwirkungen dürften auch bei Applikation einer solchen IgM-Menge nicht zu erwarten sein.

IgA sollte, laut Angaben der Hersteller, in den Präparaten nur in Spuren enthalten sein. Die Untersuchungen bestätigten dies zumeist. Drei Präparate wiesen allerdings erhöhte

IgA-Konzentrationen auf. Die Gruppe Karaus/Hoffmann (86) kam zu ähnlichen Resultaten, wobei ihre Werte in der Regel höher sind als die von mir gefundenen. Nur ein Präparat zeigt, wie schon bei IgM, eine außergewöhnlich große Abweichung zwischen den Chargen. Seine IgA-Konzentration ist so beträchtlich, daß sich der Verdacht auf einen Produktionsfehler verstärkt.

Zusammenfassend kann man sagen, daß sowohl zwischen den verschiedenen Immunglobulinpräparationen als auch zwischen deren einzelnen Chargen, was ihren Gehalt an bestimmten Stoffen betrifft, große Unterschiede vorkommen können. In bezug auf die gerinnungsphysiologisch wirksamen Substanzen sind Nebenwirkungen bei der Applikation der Gamma-Globulinpräparate nicht ganz auszuschließen. Die Untersuchung der unterschiedlichen Immunglobuline bestätigte weitgehend die Angaben der Hersteller. Im Hinblick auf das eine, stark von der Norm abweichende Präparat wären weitere Untersuchungen sinnvoll.

G) LITERATURVERZEICHNIS

1) Abiodun, Ph.; Bauer, M.; Wolf, H.; Klinge, O.; Hug, G. (1981)
Alpha-1-Antitrypsinmangel im Kindesalter
Med. Welt 32, 245-249

2) Amzel, L.; Poljak, R. (1979)
Three-dimensional structure of immunoglobulins
Annu. Rev. Biochem. 48, 961-997

3) Anderson, L.-O.; Einarsson, M.; Lundén, R. (1979)
Inhibitors of proteolysis in plasma, 305-308
in: Blombäck, B. and Hanson, L. A.: Plasma proteins;
Kabi, Stockholm

4) Barandun, S. (1964)
Die Gammaglobulin-Therapie. Chemische, immunologische und klinische Grundlagen
Bibl. Haematologica 17;
Karger, Basel

5) Barandun, S.; Castel, V.; Makula, M. F.; Morell, A.; Plan, R.; Skvaril, F. (1975)
Clinical tolerance and catabolism of plasmin-treated gamma-globulin for intravenous applikation
Vox Sang. 28, 157-175

6) Barandun, S.; Skvaril, F.; Morell, A. (1976)
Prophylaxe und Therapie mit Gamma-Globulin. Allgemeine Charakterisierung und klinische Anwendung von Gamma-Globulin-Präparaten
Schweiz. Med. Wochenschr. 106, 533-542

7) Barrett, A. J. (1981)
Alpha-2-Makroglobulin
Methods Enzymol. 80, 737-754

8) Barrett, A. J.; Starkey, Ph. M. (1973)
The interaction of alpha-2-macroglobulin with proteinases
Biochem. J. 133, 709-724

9) Behring, E. v.; Kitasato, S. (1890)
Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren
Dtsch. Med. Wochenschr. 49, 1113-1114

10) Behringwerke AG, Marburg
Automation der Proteindiagnostik

11) Behringwerke AG, Marburg
BLN-Bedienungsanleitung

12) Benacerraf, B.; Unanue, E. R. (1982)
Immunologie. Ein Kurzlehrbuch;
de Gruyter, Berlin, New York

13) Bier, O. G. (1979 a)
Antikörper, 76-95
in: Bier, G. O.; Götze, D.; Mota, I.; Dias da Silva, W.: Experimentelle und klinische Immunologie;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

14) Bier, O. G. (1979 b)
Antikörper-Bildung, 47-60
in: Bier, G. O.; Götze, D.; Mota, I.; Dias da Silva, W.: Experimentelle und klinische Immunologie;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

15) Bier, O. G. (1979 c)
Antigen-Antikörper-Wechselwirkungen, 113-161
in: Bier, O. G.; Götze, D.; Mota, I.; Dias da Silva, W.: Experimentelle und klinische Immunologie;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

16) Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim
Laborvorschrift Alpha-1-Antitrypsin

17) Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim
Laborvorschrift Alpha-2-Makroglobulin

18) Böhme, H.; Hartke, K. (1978)
Europäisches Arzneibuch Bd. 1/2, Kommentar;
Wissenschaftliche Verlagsanstalt, Stuttgart

19) Börner, U.; Hempelmann, G. (1982)
Beeinflussung des Immunsystems durch anaesthesiologische und chirurg. Maßnahmen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 34-40

20) Braun, H. J. (1983)
Gammopathien, 334-350
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

21) Claman, H. N.; Merrill, D. A.; Peakman, D.; Robinson, A. (1970)
Isolated severe gamma A deficiency: immunoglobulin levels, clinical disorders, and chromosome studies
J. Lab. Clin. Med. 75, 307-315

22) Cleve, H. (1982)
Genetik der Alpha-1-Antitrypsin-Defekte
Wien. Klin. Wochenschr. 94, 306-309

23) Corrigan, I.; Ray, W.; May, N. (1968)

Changes in the blood coagulation system associated with septicemia
N. Engl. J. Med. 279, 851-855

24) Cullmann, W.; Dick, W. (1981)
A chromogenic assay for evaluation of alpha-2-macroglobulin level in serum and cerebrospinal fluid
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 287-290

25) Davie, E. W.; Hanaham, D. J. (1975)
Blood coagulation proteins, 421-544
in: Putnam, F.: The plasma proteins, Vol. 3;
Academic Press, New York, London

26) Debanne, M. T.; Bell, R.; Dolovich, J. (1976)
Characteristics of the macrophage uptake of proteinase-alpha-macroglobulin complexes
Biochim. Biophys. Acta 428, 466-475

27) Dessau, W.; Adelmann, B. C.; Timpl, R.; Martin, G. R. (1978)
Identification of the sites in collagen alpha-chains that bind serum anti-gelatin factor (cold-insoluble globulin)
Biochem. J. 169, 55-59

28) Deutsche Kabi GmbH, München
Laborvorschrift Antiplasmin

29) Deutsche Kabi GmbH, München
Laborvorschrift S-2302

30) Dias da Silva, W. (1979)
Komplement, 95-113
in: Bier, G. O.; Götze, D.; Mota, I.; Dias da Silva, W.: Experimentelle und klinische Immunologie;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

31) Dick, W.; Cullmann, W. (1982)
An amidolytic assay for determination of alpha-1-antitrypsin in serum and in cerebrospinal fluid
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 57-60

32) Donaldson, V. H.; Evans, R. R. (1963)
zitiert aus: Harpel, P C. (1976)
C1 inactivator
Methods Enzymol. 45, 751-759

33) Douglas, G. N. (1982)
Complement system
Calbiochem-Behring

34) Downing, M. R.; Bloom, J. W.; Mann, K. G. (1978)

Comparison of the inhibition of thrombin by three plasma protease inhibitors
Biochemistry 17, 2649-2653

35) Drings, P.; Fölsch, E.; Fritsch, H.; Wohlenberg, H. (1984)
Hämatologische Erkrankungen, 84-159
in: Schettler, G.: Innere Medizin, Band II
6. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

36) Duswald, K. H. (1980)
Anwendung von Immunglobulinen gegen bakterielle Infektionen
Blut 50, 353-359

37) Duswald, K. H. (1983 a)
Immunglobulintherapie bei chirurgischen Patienten
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 39-51

38) Duswald, K. H. (1983 b)
Zur Pathobiochemie der Leukozyten-Elastase und ausgewählter Plasmaproteine bei Sepsis nach abdominalchirurgischen Eingriffen;
G-I-T-Verlag Ernst Giebeler, Darmstadt

39) Duswald, K. H.; Müller, K.; Seifert, J.; Ring, J. (1980)
Wirksamkeit von i.v. Gammaglobulin gegen bakterielle Infektionen chirurgischer Patienten
Münch. Med. Wochenschr. 122, 832-836

40) Duswald, K. H.; Ring, J. (1980 a)
Immunglobuline zur Frühtherapie von postoperativen Infektionen bei Risikopatienten. Ergebnisse einer kontrollierten Studie, 126-136
in: Deicher, H.; Stroehmann, I.: Immunglobulintherapie. Klinische und tierexperimentelle Ergebnisse;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

41) Duswald, K. H.; Ring, J. (1980 b)
Therapie mit Immunglobulinen unter besonderer Berücksichtigung der Frage nach der Wirksamkeit von intravenös appliziertem Gammaglobulin bei bakteriellen Infektionen, 207-223
in: Ahnenfeld, F. W.: Therapie mit Blutkomponenten;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

42) Eckert, P. (1983)
Immunglobuline bei Risikopatienten in der Chirurgie
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 34-38

43) Edy, I.; Collen, D. (1977)
The interaction in human plasma of antiplasmin, the

fast-reacting plasmin inhibitor, with plasmin, thrombin, trypsin and chymotrypsin
Biochim. Biophys. Acta 484, 423-432

44) Ellis, V.; Scully, M.; Mac Gregor, I.; Kakkar, V. (1982)
Inhibition of human factor Xa by various plasma protease inhibitors
Biochim. Biophys. Acta 701, 24-31

45) Encke, A. (1982)
Thrombose und Embolie, 189-198
in: Koslowski, L., Irmer, W.; Bushe, K.-A.: Lehrbuch der Chirurgie;
2. Aufl., Schattauer, Stuttgart, New York

46) Engvall, E.; Ruoslathi, E.; Miller, E. (1978)
Affinity of fibronectin to collagens of different genetic types and to fibrinogen
J. Exp. Med. 147, 1584-1593

47) Fateh-Moghadam, A.; Besinger, U.; Geursen, R. G. (1982)
Ein klinisches Modell zur Regulation der humoralen Immunantwort
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 69-79

48) Fernandes, P. M.; Lundblad, J. L. (1980)
Präparation of a stable intravenous gamma-globulin: process design and scale-up
Vox Sang. 39, 101-112

49) van Furth, R., Kramps, I. A.; Diesselhof-Den Dulk, M. M. C. (1983)
Synthesis of alpha-1-antitrypsin by human monocytes
Clin. Exp. Immunol. 51, 551-557

50) Gaggiano, V.; Cuttner, J.; Solomon, A. (1967)
Myeloma proteins, bence jones proteins and normal immunglobulins in multiple myeloma
Blood 30, 265-287

51) Ganrot, P. O. (1966)
Determination of alpha-2-macroglobulin as trypsin-protein esterase
Clin. Chim. Acta 14, 493-501

52) Ganrot, P. O. (1967)
Inhibition of plasmin activity by alpha-2-macroglobulin
Clin. Chim. Acta 16, 328-330

53) Gans, H.; Tan, B. H. (1967)

Alpha-1-antitrypsin, an inhibitor for thrombin and plasmin
Clin. Chim. Acta 17, 111-117

54) Geiger, H. (1983)
Immunologische Defektsyndrome, 260-276
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

55) Geursen, R. G.; Kroh, U.; Krump, W.; Scharfe, B. (1982)
Ursachen von Nebenwirkungen bei der Anwendung von intravenös applizierbaren Immunglobulinen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 95-114

56) Ginsberg, M. H.; Painter, R. G.; Forsyth, J.; Birdwell, Ch.; Plow, E. F. (1980)
Thrombin increases expression of fibronectin antigen on the platelet surface
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 1049-1053

57) Gitlin, D.; Janeway, C. A. (1956)
Agammaglobulinemia. Congenital, acquired and transient forms
Prog. Haematol. 1, 318-326

58) Gray, R. S.; James, K.; Merriman, J.; Starkey, I. R.; Elton, R. A.; Clarke, B. F.; Duncan, L. J. P. (1982)
Alpha-2-macroglobulin and proliferative retinopathy in type 1 diabetes
Horm. Metab. Res. 14, 389-392

59) Gronski, P.; Hofstaetter, T.; Kanzy, E.-J.; Lüben, G.; Seiler, F. R. (1982)
Die S-Sulfonierung als reversible chemische Modifikation von Immunglobulinen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 115-125

60) Gulba, D. (1984)
Zur Pathophysiologie des extrakorporalen Kreislaufs. Untersuchungen über das Gerinnungs- und Fibrinolysesystem, die zweiwertigen Elektrolyte, die Ketonkörper und Lactat während des cardio-pulmonalen Bypass in der Herzchirurgie
Med. Dissertation, Universität Tübingen

61) Hahn, H.; Kaufmann, S. H. E. (1983)
Mechanismen der Infektabwehr, 127-143
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

62) Hainski, M.; Payne, J. H.; Ordonez, G. A.; Shanbrom, E. (1971)

A new preparation of immune serum globulin for intravenous administration
Vox Sang. 20, 469-478

63) Hammarström, L.; Persson, M. A. A.; Smith, C. I. E. (1983)
Anti-IgA in selective IgA deficiency. In vitro effects and Ig subclass pattern of human anti-IgA
Scand. J. Immunol. 18, 509-513

64) Hansi, W.; Kratzsch, G.; Heimpel, H. (1980)
Klinische Erfahrungen mit einem neuen, intravenös applizierbaren Immunglobulin-Präparat
Dtsch. Med. Wochenschr. 105, 1675-1680

65) Harpel, P. C. (1970)
C1 inaktivator inhibition by plasmin
J. Clin. Invest. 49, 568-575

66) Harpel, P. C. (1976 a)
C1 inaktivator
Methods Enzymol. 45, 751-759

67) Harpel, P. C. (1976 b)
Human alpha-2-macroglobulin
Methods Enzymol. 45, 639-649

68) Harpel, P. C. (1977)
Plasmin inhibitor interactions. The effectiveness of alpha-2-plasmin inhibitor in the presence of alpha-2-macroglobulin
J. Exp. Med. 146, 1033-1040

69) Harpel, P. C. (1981)
Alpha-2-plasmin inhibitor and alpha-2-macroglobulin-plasmin complexes in plasma
J. Clin. Invest. 68, 46-55

70) Harpel, P. C.; Cooper, N. R. (1975)
Studies on human plasma C1 inaktivator-enzyme interactions. I. Mechanism of interaction with C1s, plasmin, and trypsin
J. Clin. Invest. 55, 593-604

71) Hartlapp, J. H.; Schmidt, R. E.; Illiger, H. J. (1983)
Verminderung der Infekthäufigkeit nach Polychemotherapie metastasierter Hodentumoren durch Immunglobuline
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 69-72

72) Hercz, A. (1974)
The inhibition of proteinases by human alpha-1-

antitrypsin
Eur. J. Biochem. 49, 287-292

73) Hermann, G.; Vieth, U. C. (1980)
Proteinasen und Proteinaseninhibitoren bei der Krebskrankheit
diagnostik 13, 316-319

74) Hinman, I.; Tullis, J. L.; Saravis, C. A.; Pennell, R. B. (1967)
Intravenous use of plasmin treated immunoglobulin G. 1. Preliminary report on tolerance by immunologically deficient patients
Vox Sang. 13, 85-89

75) Hofstaetter, T.; Gronski, P.; Kanzy, E.-J.; Schorlemmer, H.-U.; Seiler, F. R. (1982)
Effektorfunktionen von Venimmun
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 126-140

76) Imbach, P.; d'Apuzzo, V.; Hirt, A.; Rossi, E.; Vest, M.; Barandun, S.; Baumgartner, C.; Morell, A.; Schöni, M.; Wagner, H. P. (1981)
High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood
Lancet i, 1228-1230

77) Isenman, D. E.; Dorrington, K. J.; Painter, R. H. (1975)
The structure and funktion of immunoglobulin domains. II. The importance of interchain disulfide bonds and the possible role of molekular flexibility in the interaction between immunoglobulin G and complement
J. Immunol. 114, 1726-1729

78) Jamada, K. M.; Olden, K. (1978)
Fibronectins-adhesive glycoproteins of cell surface and blood
Nature 275, 179-183

79) James, K.; Johnson, G.; Fudenberg, H. H. (1966)
The quantitative estimation of alpha-2-macroglobulin in normal, pathological and cord sera
Clin. Chim. Acta 14, 207-214

80) Johannsen, R.; Kanzy, E.-J.; Ackermann, O.; Barth, R.; Bengelsdorff, H.-J.; Hinz, J.; Weinmann, E.; Gruschkau, H.; Seiler, F. R. (1982)
Schutzwirkung von unmodifizierten und S-sulfonierten 7S-Antikörpern bei vier verschiedenen experimentellen Virusinfektionen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 141-154

81) Joller, P. W.; Barandun, S.; Hitzig, W. H. (1980)
Neue Möglichkeiten der Immunglobulin-Ersatztherapie bei Antikörpermangel-Syndrom
Schweiz. Med. Wochenschr. 110, 1451-1453

82) Kagan, L. J.; Becker, E. L. (1963)
Inhibition of permeability globulins by C1-esterase inhibitor
Fed. Proc. 20, 613

83) Kalden, J. R.; Schranz, W.; Lösch, G.; Krapf, F.; Bartels, O. (1982)
Neue Indikationsgebiete zur hochdosierten Immunglobulintherapie: Therapeutischer Plasmaaustausch, Autoimmunopathien
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 48-59

84) van Kamp, G. J.; Calliauw, J. (1980)
Determination of alpha-2-macroglobulin in amniotic fluid in diagnosis of neural tube defect
Clin. Chem. 26, 1362-1363

85) Kaplan, J. E.; Snedeker, Ph. W. (1980)
Maintenance of fibrin solubility by plasma fibronectin
J. Lab. Clin. Med. 96, 1054-1060

86) Karaus, I.; Hoffmann, K.
Unveröffentlichte Befunde

87) Karges, H. E.; Schwinn, H.; Becker, U.; Heimburger, N. (1979)
Großer Gerinnungsstatus. Gerinnungsdiagnostik in Klinik, Labor und Praxis
Behringwerke AG. Med. Information und Vertrieb

88) Karlson, P. (1980)
Kurzes Lehrbuch der Biochemie;
7. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

89) Karpatkin, S. (1980)
Autoimmune thrombocytopenic purpura
Blood 56, 329-339

90) Kieninger, G. (1982)
Chirurgische Infektionen, 49-79
in: Koslowski, L.; Irmer, W.; Bushe, K.-A.: Lehrbuch der Chirurgie;
2. Aufl., Schattauer, Stuttgart, New York

91) Kiran, O.; Gross, S. (1969)
The G-immunoglobulins in akute leukemia in children. Hematologic and immunologic relationships

Blood 33, 198-206

92) Klima, R.; Rettenbacher-Däubner, H.; Rieder, H. (1962)
Antikörpermangel bei malignen Blutkrankheiten
Wien. Klin. Wochenschr. 74, 408-411

93) Koblet, H.; Barandun, S.; Diggelmann, H. (1967)
Turnover of standard-gammaglobulin, pH-4-gammaglobulin and pepsin desaggregated gammaglobulin and clinical implications
Vox Sang. 13, 93-102

94) Koie, K.; Ogata, K.; Kamiya, T.; Takamatsu, J. (1978)
Alpha-plasmin-inhibitor deficiency (miyasato disease)
Lancet 30, 1334-1339

95) Kornhuber, E. (1980)
Einsatz von Immunglobulinen zur unterstützenden Behandlung bei der zytostatischen Leukämietherapie, 110-115
in: Deicher, H.; Stroehmann, I.: Immunglobulintherapie. Klinische und tierexperimentelle Ergebnisse; Springer, Berlin, Heidelberg, New York

96) Lachmann, P. J. (1979)
An evolutionary view of the complement system
Behring Inst. Mitt. 63, 25-37

97) Lang, N.; Schettler, G.; Wildhack, R. (1954)
Über einen Fall von "Agammaglobulinämie" und das Verhalten parenteral zugeführten radioaktiv markierten Gammaglobulins im Serum
Klin. Wochenschr. 32, 856-863

98) Laskowski, M.; Kato, I. (1980)
Protein inhibitors of proteinases
Annu. Rev. Biochem. 49, 593-626

99) Laurell, C. B.; Eriksson, S. (1969)
zitiert aus: Reichert, R.; Hochstrasser, K.; Hochgesand, K. (1974)
Proteolyse und obstruktives Lungenemphysem
Münch. Med. Wochenschr. 116, 173-176

100) Leikola, J.; Koistinen, J.; Lehtinen, M.; Virolainen, M. (1973)
IgA-induced anaphylactic transfusion reactions: a report of four cases
Blood 42, 111-119

101) Lijnen, H. R. (1983)
Extrinsic plasminogen aktivator: a new principle in

fibrinolysis
Behring Inst. Mitt. 73, 43-55

102) Macfarlane, R. G. (1960)
The blood coagulation system, 137-181
in: Putnam, F.: The plasma proteins, Vol. 1/2
Academic Press, New York, London

103) MacKenzie, M. R.; Mackey, G.; Fudenberg, H. H. (1967)
Antibodies to IgM in normal human sera
Nature 216, 691-693

104) Masuho, Y.; Tomibe, K.; Matsuzawa, K.; Ohtsu, A. (1977)
Development of an intravenous gamma-globulin with Fc-activities. I. Preparation and charakterization of S-sulfonated human gamma-globulin
Vox Sang. 32, 175-181

105) Matheson, N. R.; Travis, J. (1976)
Inaktivation of human thrombin in the presence of human alpha-1-proteinase inhibitor
Biochem. J. 159, 495-502

106) Mc Bean, L. D.; Smith, J. C.; Berne, B. H.; Halsted, J. A. (1974)
Serum zink and alpha-2-macroglobulin concentration in myocardial infarction, decubitus ulcer, multiple myeloma, prostatic carcinoma, Down's syndrom, and nephrotic syndrome
Clin. Chim. Acta 50, 43-51

107) Mc Kelvey, E.; Carbone, P. P. (1965)
Serum immun globulin concentrations in acute leukemia during intensive chemotherapie
Cancer 18, 1292-1296

108) Metz, J.; Poppenborg, M. (1980)
Immunglobulintherapie bei Zosterinfektionen, 66-68
in: Deicher, H.; Stroehmann, I.: Immuntherapie. Klinische und tierexperimentelle Ergebnisse;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

109) Mondorf, A. W. (1980)
Immunglobulintherapie von Herpes simplex und Zosterinfektionen bei Tumorpatienten, 59-65
in: Deicher, H.; Stroehmann, I.: Immuntherapie. Klinische und tierexperimentelle Ergebnisse;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

110) Morell, A. (1983)
Funktion von Antikörpern

Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 1-5

111) Morell, A.; Barandun, S. (1982)
Substitution von Immunglobulinen bei primärem Antikörpermangelsyndrom
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 16-24

112) Morell, A.; Terry, W. D.; Waldmann, T. A. (1970)
Metabolic properties of IgG-subclasses in man
J. Clin. Invest. 49, 673-680

113) Morrison, P. R.; Edsall, J. T.; Miller, S. G. (1948)
zitiert aus: Mosesson, M. W.; Amrani, D. L. (1980)
The structure and biologic activities of plasma fibronectin
Blood 56, 145-155

114) Mörl, H. (1984)
Venenerkrankungen, 249-159
in: Schettler, G.: Innere Medizin, Band I;
6. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

115) Mosesson, M. W.; Amrani, D. L. (1980)
The structure and biologic activities of plasma fibronectin
Blood 56, 145-155

116) Mosesson, M. W.; Umfleet, R. A. (1970)
The cold-insoluble globulin of human plasma. I. Purification, primary characterization, and relationship to fibrinogen and other cold-insoluble fraction components
J. Biol. Chem. 245, 5728-5736

117) Mosher, D. F. (1975)
Cross-linking of cold-insoluble globulin by fibrin-stabilizing factor
J. Biol. Chem. 250, 6614-6621

118) Mosher, D. F. (1976)
Action of fibrin-stabilizing factor on cold-insoluble globulin and alpha-2-macroglobulin in clotting plasma
J. Biol. Chem. 251, 1639-1645

119) Mosher, D. F.; Schad, P. E.; Kleinman, H. K. (1979)
Cross-linking of fibronectin to collagen by blood coagulation factor XIIIa
J. Clin. Invest. 64, 781-787

120) Mota, I. (1979)
Antigene, 67-75
in: Bier, G. O.; Götze, D.; Mota, I.; Dias da

Silva, W.: Experimentelle und klinische Immunologie; Springer, Heidelberg, New York

121) Müller, H.; Kleine, N.; Kaufmann, W.; Kluthe, R. (1970)
Zum Stoffwechsel des Alpha-2-Makroglobulins bei Diabetes mellitus
Klin. Wochenschr. 48, 1276-1281

122) Nolte, M. T.; Pirofsky, B.; Gerritz, G. A.; Golding, B. (1979)
Intravenous immunglobulin therapie for antibody deficiency
Clin. Exp. Immunol. 36, 237-243

123) Opferkuch, W.; Cullmann, W. (1983)
Komplementsystem, 72-92
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

124) Pensky, J.; Levy, L. R.; Lepow, I. H. (1961)
zitiert aus: Harpel, P. C. (1976)
C1 inactivator
Methods Enzymol. 45, 751-759

125) Petersen, E. E.; Neumann-Haefelin, D.; Heußler, M. (1978)
Rötelninfektion in der Schwangerschaft. Experimentelle Studie zum Wert einer Gammaglobulingabe nach Rötelnwildvirusinfektion
Dtsch. Med. Wochenschr. 103, 1695-1700

126) Pott, G.; Meyering, M. (1980)
Rapid determination of fibronectin by laser nephelometry. Fibronectin conzentrations in plasma in human diseases
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18, 893-895

127) Ragab, A. H.; Lindqvist, K. J.; Vietti, T. J.; Choi, S. C.; Osterland, C. K. (1970)
Immunglobulin pattern in childhood leukemia
Cancer 26, 890-894

128) Ratnoff, O. D.; Pensky, I.; Ogston, D.; Naff, G. B. (1969)
The inhibition of plasmin, plasma kallikrein, plasma permeability factor, and the C1r subcomponent of the first component of complement by serum C1 esterase inhibitor
J. Exp. Med. 129, 315-331

129) Reichert, R.; Hochstrasser, K.; Hochgesand, K. (1974)

Proteolyse und obstruktives Lungenemphysem
Münch. Med. Wochenschr. 116, 173-176

130) Resch, K.; Gemsa, D. (1983)
Immunsystem, 2-41
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

131) Roit, I. M. (1984)
Leitfaden der Immunologie;
2. Aufl., Steinkopf, Darmstadt

132) Römer, J.; Morgenthaler, J.-J.; Scherz, R.; Skvaril, F. (1982)
Characterization of various immunglobulin preparations for intravenous application. I. Protein composition and antibody content
Vox Sang. 42, 62-73

133) Römer, J.; Späth, P. J.; Skvaril, F.; Nydegger, U. E. (1982)
Characterization of various immunglobulin preparations for intravenous application. II. Complement activation and binding to staphylococcus protein A
Vox Sang. 42, 74-80

134) Roth, S. L.; Havemann, K.; Martini, G. A.; Benkmann, H.-G.; Goedde, H. W.; Gramse, M.; Hillig, U.; Hug, G.; Keitzer, R.; Latta, E.; Rauskolb, R. (1980)
Pränataler Ausschluß eines Alpha-1-Antitrypsinmangels
Klin. Wochenschr. 58, 617-624

135) Rother, K.; Rauterberg, E. W. (1983)
Niere, 362-402
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

136) Schedel, I. (1983)
Intravenöse Immunglobulin-Substitution bei Patienten mit multiplem Myelom, Morbus Waldenström und chron. lymphat. Leukämie mit sek. Antikörpermangelsyndrom
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 52-58

137) Schedel, I.; Plaumann, G.; Bodenstein, H.; Anagnou, I.; Baruth, B.; Peest, D.; Deicher, H.; Geursen, R. G. (1982)
Hochdosierte Immunglobulin-Therapie der chron. idiopathischen thrombozytopenischen Purpura bei Erwachsenen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 60-68

138) Scheiermann, N.; Kuwert, E. K. (1979 a)

Untersuchung menschlicher Gammaglobulinpräparate.
I. Mitteilung: Virales Antikörperprofil
Med. Klin. 74, 820-824

139) Scheiermann, N.; Kuwert, E. K. (1979 b)
Untersuchung menschlicher Gammaglobulinpräparate.
II. Mitteilung: Reinheitsgrad und Zusammensetzung
Med. Klin. 74, 825-829

140) Schmidt, A. P.; Taswell, H. F.; Gleich, G. J. (1969)
Anaphylactic transfusion reactions associated with anti-IgA antibody
N. Engl. J. Med. 280, 188-193

141) Schmidt, R. E.; Budde, U. (1983)
Erfolgreiche Behandlung von Immunthrombopenien mit hochdosierten intravenösen Immunglobulinen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 73-78

142) Schmidt, R. E.; Budde, U.; Schäfer, G.; Stroehmann, I. (1981)
High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura
Lancet ii, 475-476

143) Schmidt, R. E.; Lüttkenhorst, M.; Hartlapp, J. H.; Illiger, H. J.; Stroehmann, I. (1983)
Prophylaktische Gabe von Immunglobulinen bei aggressiv chemotherapierten Patienten mit Bronchialkarzinomen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 59-68

144) Schmidt, R. E.; Stroehmann, I.; Hartlapp, J. H.; Illiger, H. J. (1980)
Wert der prophylaktischen Gabe von Immunglobulin bei aggressiver Chemotherapie, 116-125
in: Deicher, H.; Stroehmann, I.: Immunglobulintherapie. Klinische und tierexperimentelle Ergebnisse; Springer, Berlin, Heidelberg, New York

145) Schmitz, N.; Gassmann, W.; Löffler, H. (1982)
Substitution mit Immunglobulinen bei Leukämien
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 34-40

146) Schneider, W.; Kaiser, P. E. (1981)
Immunglobuline vom Menschen - Anforderung an seine Unschädlichkeit und Wirksamkeit
Immun. Infekt., Sonderdruck 5, 157-161

147) Schorlemmer, H.-U. (1982)
Das Komplement-System
Die gelben Hefte XXII, 49-59

148) Schreiber, A. D.; Kaplan, A. P.; Austen, K. F. (1973)
Plasma inhibitors of the components of the fibrinolytic pathway in man
J. Clin. Invest. 52, 1394-1401

149) Schultze, H. E.; Gollner, I.; Heide, K.; Schonenberger, M.; Schwick, G. (1955)
zitiert aus: Travis, J.; Johnson, D. (1981)
Human alpha-1-proteinase inhibitor
Methods Enzymol. 80, 754-765

150) Schultze, H. E.; Schwick, G. (1962)
Über neue Möglichkeiten intravenöser Gammaglobulin-Applikation
Dtsch. Med. Wochenschr. 34, 1643-1650

151) Schumacher, K. (1977)
Sekundäre Defektimmunopathien
Internist 18, 255-263

152) Schütz, E.; Caspers, H.; Speckmann, E.-J. (1978)
Physiologie;
15. Aufl., Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore

153) Scott, Ch. F.; Schapira, M.; James, H. L.; Cohen, A. B.; Colman, R. W. (1982)
Inaktivation of factor XIa by plasma protease inhibitors. Predominant role of alpha-1-protease inhibitor and protective effect of high molekular weight kininogen
J. Clin. Invest. 69, 844-852

154) Sedlacek, H. H.; Seiler, F. R. (1982)
Zur Frage der Pathogenität von Immunkomplexen und der intravenösen klinischen Anwendung von IgG und enzymatisch behandelten IgG-Präparationen
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 80-94

155) Sedlacek, H. H.; Seiler, F. R. (1983)
Prophylaxe und Therapie mit Immunglobulinen: Eine kritische Stellungnahme zur Frage der Immunkomplex-bedingten Entzündungsreaktion
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 6-19

156) Seiler, F. R. (1981)
Struktur und Wirkungsweise von Antikörpern
Sonderdruck aus "5. interdisziplinäres Forum" der Bundesärztekammer vom 14. bis 17. Januar 1981

157) Seiler, F. R. (1982)
Struktur und Funktion von Immunglobulinen

Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 1-15

158) Sgouris, J. T. (1967)
The preparation of plasmin treated immune serum globulin for intravenous use
Vox Sang. 13, 71-84

159) Sim, R. B.; Arland, G. J.; Colomb, M. G. (1980)
Kinetics of reaktion of human C1-inhibitor with the human complement system proteases C1r and C1s
Biochim. Biophys. Acta 612, 433-449

160) Spilles, C. (1983)
Herstellung und Eigenschaften eines neuen chemisch modifizierten i.v. Immunglobulins: Polyglobin
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 26-33

161) Stathakis, N. E.; Mosesson, M. W. (1977)
Interactions among heparin, cold-insoluble globulin and fibrinogen in formation of the heparin-precipitable fraction of plasma
J. Clin. Invest. 60, 855-865

162) Stephan, W. (1975)
Undegraded human immunglobulin for intravenous use
Vox Sang. 28, 422-437

163) Stephan, W. (1983)
Chemische Modifizierung mit Beta-Propiolacton als allgemeines Konzept zur Herstellung von intravenös verträglichen Immunglobulinpräparaten
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 11, 20-25

164) Streuli, R.; Grob, P. J. (1977)
Die diagnostische Bedeutung des Alpha-1-Antitrypsins
Dtsch. Med. Wochenschr. 102, 398-400

165) Suzuki, T.; Deutsch, H. F. (1967)
Dissoziation, reaggregation and subunit structure studies of some human gamma M-globulins
J. Biol. Chem. 242, 2725-2738

166) Tomasi, T. B. (1968)
Human immunglobulin A
N. Engl. J. Med. 279, 1327-1330

167) Toyka, K. V.; Becher, T.; Fateh-Moghadam, A.; Besinger, U. A.; Brehm, G.; Neumeier, D.; Heininger, K.; Birnberger, K. L. (1979)
Die Bedeutung der Bestimmung von Antikörpern gegen Acetylcholinrezeptoren in der Diagnostik der Myasthenia gravis
Klin. Wochenschr. 57, 937-942

168) Trautmann, M.; Brückner, O.; Hofstaetter, T.; Seiler, F. R.; Hahn, H. (1982)
Schutzwirkung verschiedener Antikörperpräparationen bei einer experimentellen bakteriellen Sepsis
Beitr. Infusionsther. Klinis. Ernähr. 9, 155-165

169) Travis, J.; Johnson, D. (1981)
Human alpha-1-proteinase inhibitor
Methods Enzymol. 80, 754-765

170) Travis, J.; Salvesen, G. (1983 a)
Control of coagulation and fibrinolysis by plasma proteinase inhibitors
Behring Inst. Mitt. 73, 56-65

171) Travis, J.; Salvesen, G. (1983 b)
Human plasma proteinase inhibitors
Annu. Rev. Biochem. 52, 655-709

172) Vogt, W. (1982)
Aktivierung und biologische Wirkung des Komplementsystems
Funkt. Biol. Med. 1, 189-198

173) Vorlaender, K.-O. (1983)
Plasmaproteine, 93-104
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

174) Vorlaender, K.-O.; Seiler, F. R. (1983)
Immunglobuline und Antikörper, 55-69
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

175) Vyas, G. N.; Holmdahl, L.; Perkins, H. A.; Fudenberg, H. H. (1969)
Serologic specifity of human anti-IgA and its significance in transfusion
Blood 34, 573-580

176) Wadsworth, C.; Hanson, L. A. (1976)
IgA in commercial gamma-globulin preparations
Scand. J. Immunol. 5, 15-22

177) Waldmann, T. A.; Strober, W. (1969)
Metabolism of immunglobulin
Prog. Allergy 13, 1

178) Wegmüller, E. (1981)
Die therapeutische Bedeutung der Plasmapherese bei Immunkrankheiten
Schweiz. Med. Wochenschr. 111, 443-449

179) Wekerle, H.; Ketelsen, U. (1983)
Myasthenia gravis, 570-581
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

180) Wiman, B.; Collen, D. (1977)
Purification and characterization of human antiplasmin, the fast-acting plasmin inhibitor in plasma
Eur. J. Biochem. 78, 19-26

181) Wiman, B.; Collen, D. (1978)
On the kinetics of the reaction between human antiplasmin and plasmin
Eur. J. Biochem. 84, 573-578

182) Wiman, B. (1981)
Human alpha-2-antiplasmin
Methods Enzymol. 80, 395-408

183) Winckelmann, G. (1983)
Immunthrombozytopenien, 315-327
in: Vorlaender, K.-O.: Immunologie;
2. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York

184) Witt, G.; Tritschler, P. (1983)
Alpha-2-Makroglobulin in Serum und Plasma: Referenzwerte mit einem chromogenen Substrat
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21, 429-435

185) Zazgornik, J.; Balcke, P.; Schmidt, P.; Kopsa, H.; Hysek, H.; Lenz, K. (1981)
Alpha-1-Antitrypsin und Fibrinogenspiegel bei chronischer Niereninsuffizienz und nach Nierentransplantation
Klin. Wochenschr. 59, 1261-1265

186) Zazgornik, J.; Kopsa, H.; Schmidt, P.; Pils, P.; Balcke, P.; Hysek, H.; Deutsch, E. (1980)
Konzentration von Alpha-1-Antitrypsin im Serum dialysierter und nierentransplantierter Patienten
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18, 241-244

187) Zucker, M. B.; Mosesson, M. W.; Broekman, M. J.; Kaplan, K. L. (1979)
Release of platelet fibronectin (cold-insoluble globulin) from alpha granules induced by thrombin or collagen; lack of requirement for plasma fibronectin in ADP-induced platelet aggregation
Blood 54, 8-11

H) TABELLEN-ANHANG

Die nachfolgenden Tabellen enthalten die Werte, die den Berechnungen im Rechenzentrum zugrunde lagen. Sie entsprechen den Mittelwerten, gebildet aus den für jeden Parameter erhaltenen Doppelwerten.

C1-Inhibitor (U/l): Ergebnisse der Untersuchung mittels chromogener Substrate

Präparat	Flasche 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
c	10,01	6,75	8,59	7,44	9,08	5,83	5,83	5,94	6,06	7,21
d	0,435	1,33	0,645	0,0	1,765	2,205	0,0	0,545	1,215	0,21
e	4,015	6,755	3,67	6,41	1,78	3,675	4,805	2,32	1,985	3,33
f	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
h	3,56	0,545	1,665	2,775	3,33	3,04	2,67	1,76	2,545	1,215

C1-Inhibitor (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
c	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
d	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
e	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
f	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
g	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
h	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22

Antiplasmin (%): Ergebnisse der Untersuchung mittels chromogener Substrate

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	1,83	1,82	1,87	1,73	1,67	1,64	1,71	1,72	1,88	1,77
b	3,06	2,80	2,98	2,88	2,88	2,96	3,18	3,20	3,06	2,85
c	2,49	2,38	2,33	2,36	2,34	2,31	2,25	2,17	2,31	2,34
d	1,67	1,60	1,56	1,67	1,47	0,76	0,84	0,84	0,87	0,89
e	1,45	1,41	1,41	1,40	1,48	1,31	1,29	1,41	1,38	1,37
f	1,30	1,22	1,13	1,15	1,14	1,18	1,17	1,11	1,11	1,15
g	1,25	1,24	1,26	1,15	1,30	1,31	1,12	1,24	1,21	1,29
h	1,22	1,16	1,08	1,12	1,11	1,01	1,06	1,10	1,06	1,00

Alpha-1-Antitrypsin (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels chromogener Substrate

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	44,41	45,81	24,80	5,044	42,31	7,285	40,77	43,71	8,266	16,67
b	4,856	0,0	4,856	4,856	4,856	4,856	0,0	0,0	4,856	4,856
c	29,14	29,14	21,85	29,14	21,85	21,85	29,14	43,71	43,71	43,71
d	18,21	0,0	18,91	38,53	14,57	7,285	0,0	7,285	7,285	7,285
e	5,044	5,044	0,0	17,37	12,33	5,044	12,33	5,044	0,0	5,044
f	26,90	34,188	10,08	34,18	37,08	21,85	10,92	29,00	11,48	25,36
g	6,865	34,32	0,0	6,865	6,865	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
h	0,0	0,0	7,285	7,285	7,285	14,57	14,57	14,57	0,0	0,0

Alpha-1-Antitrypsin (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
c	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
d	1,05	1,015	1,03	1,025	1,04	1,015	1,03	1,03	1,035	1,025
e	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
f	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Alpha-2-Makroglobulin (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels chromogener Substrate

Präparat	Flasche 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	2,722	4,764	11,910	15,313	0,0	0,0	5,444	7,826	5,444	6,805
b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
c	13,61	5,444	11,229	3,402	7,826	5,444	0,0	0,0	0,0	0,0
d	3,062	2,041	0,0	3,402	5,444	7,826	5,444	2,041	2,041	7,826
e	10,208	11,910	5,785	4,764	6,805	4,764	8,167	8,167	5,444	6,805
f	7,146	5,785	8,167	13,952	13,952	12,931	8,167	12,931	18,716	20,758
g	1,361	4,764	2,722	4,764	2,722	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
h	0,0	3,743	7,146	0,0	0,0	1,361	3,743	2,722	0,0	0,0

Alpha-2-Makroglobulin (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
b	2,00	1,95	1,95	1,91	1,93	1,96	1,96	1,95	1,96	1,96
c	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
d	10,49	10,30	10,34	10,27	10,27	10,30	10,34	10,27	10,38	10,34
e	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
f	2,72	2,68	2,67	2,69	2,65	2,68	2,65	2,70	2,72	2,70
g	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
h	23,45	22,46	23,3	23,45	23,37	22,61	23,85	22,91	23,29	23,75

Fibronectin (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
c	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
d	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
e	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
f	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

IgG (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	6365	6248	6248	6216	6248	6227	6143	6227	6164	6133
b	4673	4765	4706	4731	4756	4825	4690	4806	4816	4706
c	5665	5712	5732	5654	5551	5618	5656	5598	5579	5674
d	5523	5441	5732	5598	5551	5505	5459	5588	5570	5533
e	5423	5422	5405	5315	5422	5369	5495	5487	5387	5378
f	6164	6185	6122	6164	6091	6101	6154	6060	6091	6091
g	4966	5065	4958	5015	5023	5082	5082	5048	5065	5073
h	5560	5487	5533	5404	5459	5396	5579	5486	5523	5395

IgM (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

	Flasche									
Präparat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
b	0,986	1,026	1,026	0,996	1,046	1,046	1,066	1,046	1,026	1,066
c	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
d	1,165	1,135	1,135	1,129	1,117	1,135	1,135	1,147	1,129	1,165
e	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
f	6,756	6,776	6,776	6,807	6,827	6,837	6,837	6,910	6,899	6,910
g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

IgA (mg/dl): Ergebnisse der Untersuchung mittels Laser-Nephelometrie

Präparat	Flasche 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
b	86,66	87,83	86,83	74,58	76,56	75,25	85,66	75,25	75,83	74,33
c	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
d	78,79	75,40	75,40	77,43	75,85	79,91	76,08	75,40	77,21	74,50
e	93,71	94,16	94,17	94,39	92,35	90,31	93,94	91,90	90,99	93,49
f	11,90	11,72	11,74	12,06	12,01	12,13	11,62	12,15	11,87	12,11
g	16,24	17,19	17,17	16,65	17,12	17,09	17,12	16,53	16,82	16,97
h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

LEBENSLAUF

Am 31. Juli 1959 wurde ich, Andreas Thum, als Sohn des Finanzbeamten Arthur Thum und seiner Ehefrau Wilhelmine Thum geb. Wohlgemuth in Stuttgart geboren. Ab 1966 besuchte ich die Grundschule "Heusteigschule" in Stuttgart. 1968 wechselte ich in die Albschule in Stuttgart-Degerloch. Ab 1969 besuchte ich das Wilhelms-Gymnasium in Stuttgart-Degerloch, 1976 wechselte ich in das Wirtschaftsgymnasium Stuttgart-Ost, an dem ich am 31. Mai 1979 mein Abitur ablegte.

Im Juli 1979 begann ich meinen Grundwehrdienst in Böblingen.

Im April 1980 nahm ich, nach vorzeitiger Entlassung aus der Bundeswehr, das Studium der Zahnheilkunde an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen auf. Am 12. März 1981 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung für Zahnärzte, am 17. März 1983 die zahnärztliche Vorprüfung ab. Am 12. Dezember 1985 beendete ich mein Studium mit dem zahnärztlichen Staatsexamen in Tübingen.

Von August bis Oktober 1983 arbeitete ich im Labor der Chirurgischen Universitätsklinik unter Anleitung von Prof. Dr. W. Heller am experimentellen Teil meiner Dissertation "Gerinnungsphysiologische Untersuchungen an Immunglobulinpräparationen mit Hilfe chromogener Substrate und Laser-Nephelometrie".

Seit dem 23. Dezember 1981 bin ich mit der Grund- und Hauptschullehrerin Birgit Thum geb. Böhm verheiratet.

Seit Januar 1986 leiste ich meine Restwehrdienstzeit bei der Bundeswehr in Immendingen ab.